

ANNALES DE PARASITOLOGIE
HUMAINE ET COMPARÉE

ANNALES

DE

PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

DIRECTEUR :

Professeur E. BRUMPT

SECRÉTAIRES GÉNÉRAUX :

M. NEVEU-LEMAIRE — M. LANGERON

Tome XVI. — 1938



MASSON ET C^{IE}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS

ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

TOME XVI

1^{er} JANVIER 1938

N° 1

MÉMOIRES ORIGINAUX

LES ESPÈCES IRANIENNES

DU GENRE *HÆMAPHYSALIS* KOCH 1844.

IDENTITÉ D'*HÆMAPHYSALIS* *CHOLODKOVSKYI* OLENEV 1928

ET D'*H. CINNABARINA* VAR. *CRETICA* SENEVET

ET *CAMINOPETROS* 1936

Par L. DELPY

La présence d'*Ixodidæ* du genre *Hæmaphysalis* Koch 1844, n'a jamais été signalée, jusqu'ici, en Iran. Ces tiques y sont cependant assez communes, car, sans les faire spécialement rechercher, nous en avons récolté ou reçu de nombreux lots, provenant de diverses régions. Trente-deux lots ont été conservés et ont servi de base à nos recherches. Le tableau I indique les déterminations, les hôtes et la répartition géographique.

TABLEAU I

ESPÈCES	HÔTES	HABITAT
<i>H. cinnabarina punctata</i> (Can. et Fanz. 1877).....	Bovidés Ovidés	Provinces du Nord. Littoral de la mer Caspienne. Steppe Turkomane.
<i>H. cholodkovskyi</i> Olenev 1928..	Bovidés Ovidés Capridés Gazelle	Khorassan, Isfahan, Téhéran, Firouzkouh, Massif de l'Albourz.
<i>H. concinna</i> Koch 1844.....	Bovidés Ovidés Equidés	Littoral de la mer Caspienne et montagnes du Guilan.
<i>H. inermis</i> Birula 1895.....	Ovidés	Mazandéran.

Hæmaphysalis cholodkovskyi paraît être l'espèce la plus commune, tout au moins dans les régions assez élevées. Certains de nos spécimens ont été récoltés sur des gazelles qui vivent à 2.500 ou 3.000 mètres d'altitude. Les autres espèces nous ont été envoyées surtout des basses régions du littoral de la mer Caspienne, mais *H. concinna* a été également rencontré dans les montagnes du Guilan. Nous n'avons jamais trouvé d'*Hæmaphysalis* dans les lots de tiques provenant des régions Sud et Sud-Est. Il est probable qu'une prospection attentive permettrait de trouver, dans ces provinces méridionales, quelques-unes des espèces signalées aux Indes par Shariff (1928).

Dans l'ensemble, les spécimens iraniens correspondent bien aux descriptions déjà publiées : on n'observe pas, chez les *Hæmaphysalis*, les variations individuelles qui rendent si complexe l'étude de certains autres genres (*Hyalomma*, par exemple). Il serait donc inutile de refaire des descriptions détaillées et nous mentionnerons seulement quelques particularités.

1. *Hæmaphysalis cinnabarina punctata* (Canestrini et Fanzago 1877)

Nous adoptons pour cette tique le nom proposé par Nuttall et Warburton (1915), parce que la monographie de ces auteurs fait autorité. Il n'y aurait pourtant, croyons-nous, que des avantages à distinguer *H. cinnabarina* Koch 1844, espèce américaine et *H. punctata*, Can. et Fanz. 1877, espèce d'Europe, Asie et Afrique. Il y a, entre ces deux tiques, d'autres différences que la « plaque chitineuse blanchâtre » qui, d'après Neumann, caractérise la femelle d'*H. punctata*. Il suffit d'ailleurs, pour s'en convaincre, de comparer les figures de Nuttall et Warburton.

Tous les spécimens récoltés en Iran sont de morphologie comparable. En élevage de laboratoire, nous avons obtenu des séries de mâles et de femelles absolument identiques. Jusqu'ici, nous n'avons pas observé l'atrophie de l'épine de la hanche IV, qui, d'après Nuttall et Warburton, est fréquente chez les formes transcausiennes. Par contre, nous avons observé cette anomalie chez quelques spécimens de *H. cholodkovskyi*, espèce qui n'était pas décrite lors de la publication du travail des auteurs anglais.

Nous avons élevé *H. cinnabarina punctata*, sur trois hôtes (lapin-lapin-mouton), sans difficulté. Nous donnons (Tableau II) la moyenne des chiffres que nous avons obtenus, comparés aux chiffres de Nuttall et Warburton (1915).

TABLEAU II

	IRAN	NUTTALL ET WARBURTON
Ponte à éclosion.....	Jours : 24	38
Repas larvaire.....	7	6
Fin repas à 1 ^{re} mue.....	34	14
Repas nymphal.....	9	7
Fin repas à 2 ^e mue.....	35	15
Repas femelle.....	13	14
Fin repas à ponte.....	20	10
Temps perdu entre mues et repas.....	21	21
Total..... jours :	163	125

Nos élevages ont été effectués d'août à décembre (température variant de 35° à 10°), tandis que les auteurs anglais ont gardé le plus souvent leurs tiques aux environs de 17°. La chaleur, au-dessus de 30°, ne favorise que l'éclosion et ralentit plutôt les autres phases.

Quant au froid, au-dessous de 10°, il a une influence nettement empêchante. Au cours de l'hiver 1935, nous avons perdu 100 p. cent de nos femelles gorgées qui avaient été laissées dans un local non chauffé.

Ces résultats expliquent, dans une certaine mesure, que cette tique ne se rencontre pas, en Iran, dans les régions élevées, mais soit localisée aux régions humides et tempérées de la Mer Caspienne.

2. *Hæmaphysalis cholodkovskyi* Olenov 1928

Cette tique est, nous l'avons dit, assez commune en Iran. L'aspect très particulier du mâle, dont le corps est largement renflé en arrière des stigmates, permet de la déterminer « à l'œil nu ». Par contre, si l'on néglige cet aspect d'ensemble, et que l'on procède d'emblée à la détermination « raisonnée », on peut arriver à rapprocher cet *Hæmaphysalis* d'*H. cinnabarina punctata*. L'emploi de clés dichotomiques non accompagnées de figures, conduit souvent à cette sorte d'erreur. Cette remarque explique peut-être que Senevet et Caminopetros (1936), ayant trouvé *H. cholodkovskyi* dans l'île de Crète, l'aient décrite à nouveau sous le nom de *H. cinnabarina* var.

cretica (1). Les excellentes figures et la description précise donnée par ces auteurs, ne laissent aucun doute sur l'identité d'*H. cholodkovskiy*, et d'*H. cinnabarina cretica*, qui tombe, par conséquent, en synonymie.

Notre Tableau III, ainsi que la figure 4, A, B, C, nous dispenseront de plus longs commentaires.

TABLEAU III

	H. CINNABARINA PUNCTATA	H. CHOLODKOVSKIY	H. CINNABARINA CRETICA
<hr/>			
MALE			
Corps.....	Ovoïde, petit (3×2^{mm})	Long et mince, dilaté en arrière des stigmates ; assez grand ($4,4 \times 1,9^{mm}$).	
Festons.....	11 nets. Courts.	9 nets. Longs.	
Cornua.....	Courtes.	Longues.	
Art. II des palpes.	Sans éperon dorsal.	Un éperon dorsal rétrograde.	
Epine coxa IV...	Courbée vers l'intérieur.	Courbée vers l'extérieur.	
<hr/>			
FEMELLE			
Hypostome.....	Dentition 5/5 ou 6/6.	Dentition 4/4.	
Art. II des palpes.	Sans éperon dorsal.	Un éperon dorsal rétrograde.	
Epines coxales...	Nettes même à la hanche IV.	Très courtes et mousses, peu apparentes.	

A notre avis, Olenev a eu raison de faire de *H. cholodkovskiy* une espèce distincte. Sa morphologie le sépare très nettement de *H. cinnabarina punctata*, et encore davantage, cela va sans dire, de *H. cinnabarina*. Par ailleurs, le travail de Sénevét et Caminopetros montre que, dans l'île de Crète, la tique présente les mêmes caractéristiques qu'en Russie et qu'en Iran. Il ne s'agit donc point d'une variété géographique.

L'aire de dispersion de *H. cholodkovskiy* peut (pour l'instant) être fixée entre les limites suivantes : vingtième à soixantième degrés de longitude Ouest et trentième à quarante-cinquième degrés de lati-

(1) Les A.A. emploient aussi la désignation : *H. punctata* var. *cretica*.

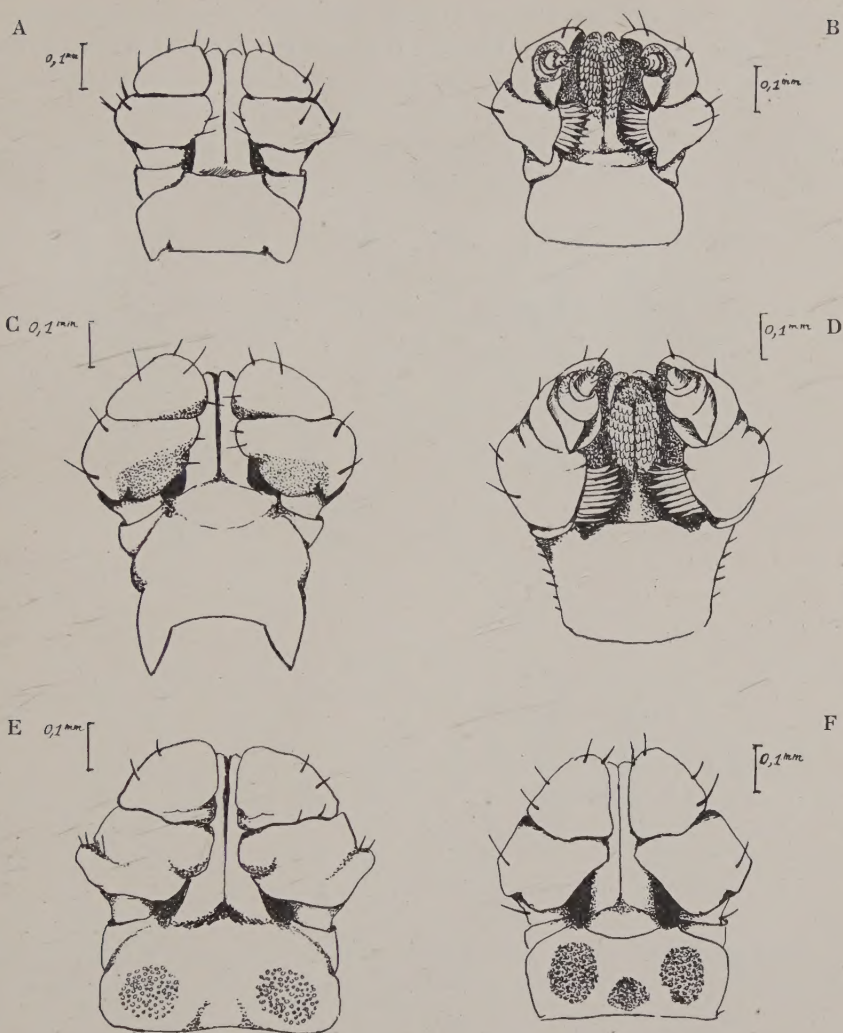


FIG. 1. — A, *Hæmaphysalis cinnabarina punctata*, mâle, capitulum, dos ; B, Le même, face ventrale ; C, *H. cholodkovskyi*, mâle, capitulum, face dorsale ; D, Le même, face ventrale ; E, *H. cinnabarina punctata*, femelle, capitulum, dos ; F, *H. cholodkovskyi*, femelle, capitulum, doc. (Originale) (1).

tude Nord. Rappelons que nous l'avons trouvée entre 2.500 et 3.000 mètres.

(1) Toutes les figures ont été faites à la chambre claire d'après des spécimens conservés dans l'alcool. Elles ont été retouchées à l'aide du binoculaire.

Olenev a récolté cette tique sur les chèvres ; Sénevet et Caminopetros sur les moutons. On la trouve, en Iran, sur tous les ruminants.

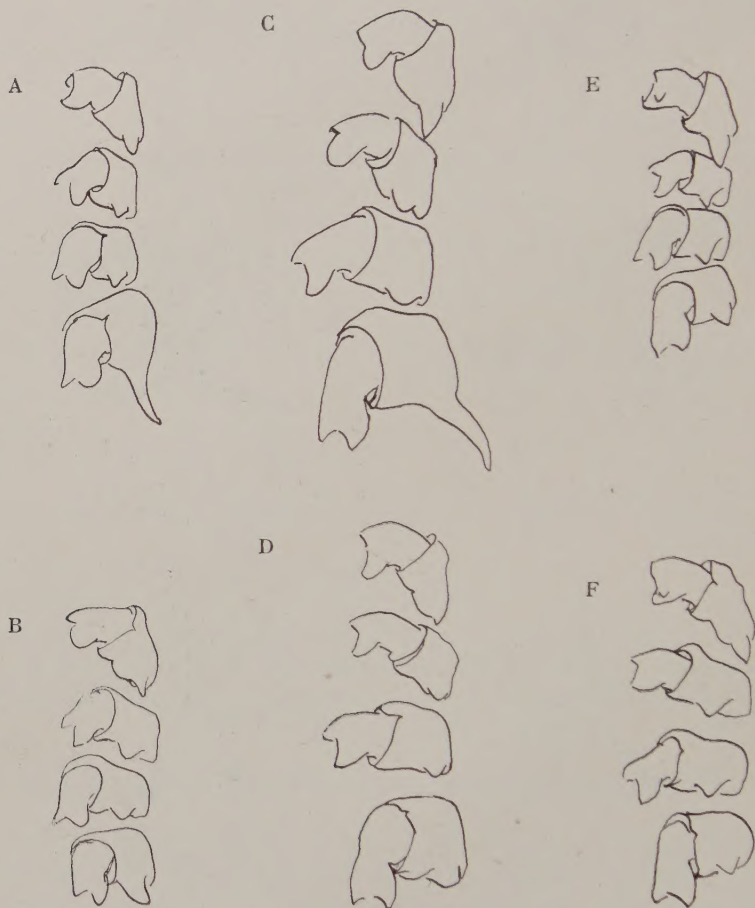


FIG. 2. — A, *H. cinnabarina punctata*, mâle, Coxæ I-IV ; B, *H. cinnabarina punctata*, femelle, Coxæ I-IV ; C, *H. cholodkovskyi*, mâle, Coxæ I-IV ; D, *H. cholodkovskyi*, femelle, Coxæ I-IV ; E, *H. concinna*, mâle, Coxæ I-IV ; F, *H. concinna*, femelle, Coxæ I-IV. (Originale).

3. *Hæmaphysalis concinna* Koch 1844

Le mâle de cette espèce est très petit : Neumann donne 3 mm., \times 1 mm., 7 ; Nuttall et Warburton $2,3 \times 1,9$ à $3 \times 1,84$. La plupart de nos spécimens ont 2 mm., 5×1 mm., 6. Pour cette

raison, il est beaucoup plus rare de trouver des mâles que des femelles et, en 1915, Nuttall et Warburton constatent que l'on n'a jamais trouvé de mâles hors d'Europe. Comme ces auteurs estiment que la détermination des femelles d'*H. concinna* n'offre aucun caractère de certitude, ils jugent qu'il est très imprudent d'attribuer, à l'espèce « *concinna* », des femelles trouvées hors d'Europe

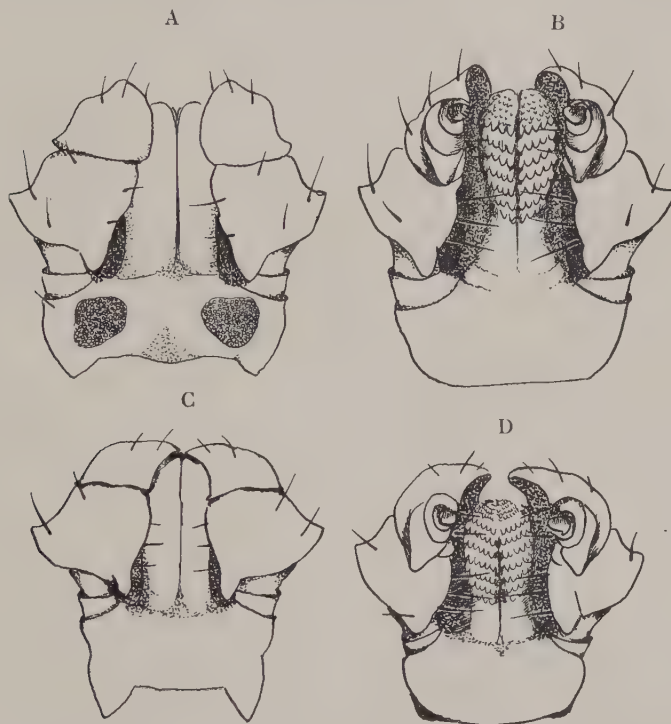


FIG. 3. — A, *H. concinna*, femelle, capitulum, dos ; B, Le même, face ventrale ; C, *H. concinna*, mâle, capitulum, dos ; D, Le même, face ventrale. (Originale).

en l'absence de mâles et concluent qu'*H. concinna* est une espèce strictement européenne.

Les premiers lots que nous avons examinés ne comportaient pas de mâles. Puis, nous avons eu l'occasion de récolter nous-même, sur un animal, des femelles et des mâles. Comme les mâles étaient certainement « *concinna* », et qu'il n'y en avait point d'autre espèce, nous avons pensé que l'identité des femelles n'était pas douteuse.

Leur morphologie correspond aux descriptions de Neumann (1897 et 1911) et de Nuttall et Warburton (1915) et, en Iran tout au moins, leur identification ne présente pas de difficultés.

En étudiant des spécimens conservés dans l'alcool et légèrement desséchés, on constate que, chez la femelle, l'article II des palpes présente (fig. 3, A et B) :

a) Une saillie aiguë postéro-externe, décrite par les auteurs.

b) Une dent nette à l'angle interne postéro-dorsal, qui n'est signalée que par Nuttall et Warburton.

c) Une dent nette à l'angle interne postéro-ventral, qui n'a pas été mentionnée jusqu'ici.

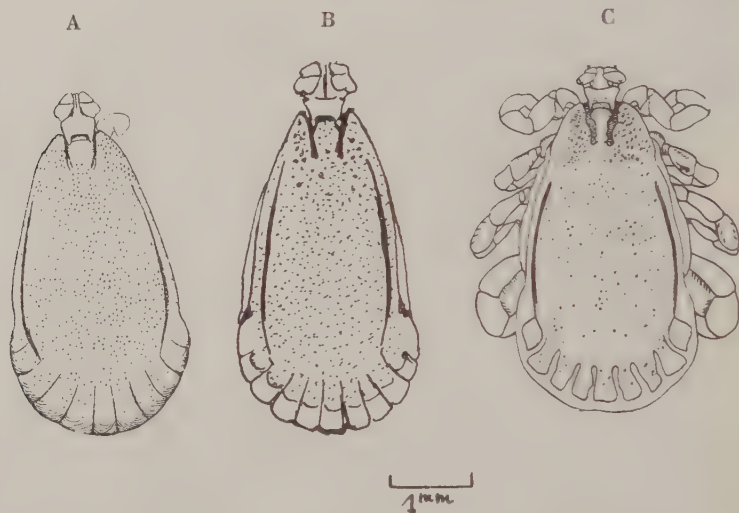


FIG. 4. — A, *H. cholodkovskyi*, mâle. D'après Olenev ; B, *H. cholodkovskyi*, mâle d'Iran. (Originale) ; C, *H. punctata*, var. *cretica*. D'après Senevet et Caminopetros.

En outre, le bord inférieur et interne de l'article ne porte que trois fortes soies à direction transverse, *non foliacées*. Enfin, l'épine de la hanche I, très nette, facilite encore l'identification (fig. 2, F).

Quant au mâle, la disposition en pince de ses palpes permet de le déterminer sans aucune difficulté (fig. 3, C et D).

L'iconographie de cette tique, et en particulier de la femelle, est pauvre. Les figures de Koch n'ont qu'un intérêt historique et Neumann note avec raison (1897, p. 338) : « Il semble bien que Koch décrive comme le mâle une femelle jeune. » Neumann lui-même ne figure que les détails du capitulum mâle. Nuttall et Warburton donnent, de la femelle, un dessin très sommaire et il en est de même pour Patton et Cragg. Nous pensons donc bien faire en complétant ici cette iconographie.

4. *Hæmaphysalis inermis* Birula 1895

Bornons-nous à signaler que la femelle présente parfois, dans ce pays, le type *aponommoides* décrit par Nuttall et Warburton.

CLÉ POUR LA DÉTERMINATION DES HÆMAPHYSALIS IRANIENS

Mâles

- | | |
|--|--|
| <p>1. — Article II des palpes sans saillie latérale débordant la base du capitulum .
 — Art. II des palpes présentant une saillie latérale qui déborde nettement la base du capitulum</p> | <p><i>H. inermis</i> Bir. 1895.
 2.</p> |
| <p>2. — Articles III des palpes, contournés en pointe et formant pince (fig. 3, C et D).
 — Art. III des palpes ne présentant pas cette disposition.</p> | <p><i>H. concinna</i> Koch 1844.
 3.</p> |
| <p>3. — Art. II des palpes muni d'un éperon dorsal rétrograde, cornua longues (fig. 3). Epine de la hanche IV recourbée vers l'extérieur (fig. 2), corps élargi en arrière des stigmates (fig. 4, A, B et C)</p> | <p><i>H. cholodkovskyi</i> Olenov 1928.</p> |
| <p>— Art. II des palpes sans éperon dorsal (fig. 1, A), cornua courtes, épine de la hanche IV recourbée vers l'intérieur (fig. 2, A), corps régulièrement ovoïde.</p> | <p><i>H. cinnabarina punctata</i> (Can. et Fanz 1877).</p> |

Femelles

- | | |
|--|---|
| <p>1. — Art. II des palpes sans saillie latérale .
 — Art. II des palpes avec saillie latérale .</p> | <p><i>H. inermis</i>.
 2.</p> |
| <p>2. — Cornua de la base du capitulum nettes (fig. 3, A)</p> | <p><i>H. concinna</i>.</p> |
| <p>— Cornua absentes ou peu marquées (fig. 1, E et F)</p> | <p>3.</p> |
| <p>3. — Epine de la hanche IV plus développée que celles des autres hanches qui sont bien visibles (fig. 2, B)</p> | <p><i>H. cinnabarina punctata</i>.</p> |
| <p>— Seule l'épine de la hanche I assez nette, les autres peu marquées (fig. 2, D) ..</p> | <p><i>H. cholodkovskyi</i>,</p> |

BIBLIOGRAPHIE (1)

- KOCH (C.L.). — *Ubersicht des Arachnidensystems*, viertes Heft, 1844.
- NEUMANN. — Revision de la famille des Ixodidés. *Mém. Soc. Zool. de France*, X, 1897, p. 326 et suivantes.
- *Das Tierreich*, 1911.
- NUTTALL et Warburton. — *Ticks*, Part. III : *Genus Hæmaphysalis*, 1915.
- OLENEV. — *C.-R. Acad. Sc. de l'U.S.S.R.*, N° 2, 1928, p. 30.
- *Ixodoidea de l'U.S.S.R.*, 1931 (en Russe).
- PATTON et Cragg. — *Textbook of Medical entomology*, 1913, p. 627 et suivantes.
- SENEVET et CAMINOPETROS. — Une nouvelle variété de l'*H. punctata*. *Arch. Institut Pasteur d'Algérie*, XIV, 1936, p. 24.
- SHARIFF. — A revision of the Indian Ixodidæ. *Rec. Ind. Mus.*, 1928, p. 237 et suivantes.

(1) Cette liste ne comprend que les auteurs cités dans l'article.

*Services des Recherches vétérinaires de l'Empire iranien,
Hessarek par Karadj, Téhéran (Iran).*

A PROPOS D'UNE NYMPHE MONSTRUEUSE DE *HYALOMMA MAURITANICUM* SENEVET

Par C. DESPORTES

En examinant des larves hexapodes d'*Hyalomma mauritanicum*, récoltées avant leur mue sur un bovin et mises à l'étuve à 26° pour obtenir des nymphes de cette espèce, le professeur Brumpt a observé une nymphe à deux anus dont il nous a confié l'étude.

C'est la première fois qu'une anomalie est signalée chez cette espèce. Nous savons, du reste, combien sont rares les malformations chez les ixodins : les différents auteurs ayant eu à s'occuper de la systématique de ces acariens, et qui ont pu isoler quelques monstres, sont d'accord sur ce point.

Pourtant, depuis les premiers cas publiés par Neumann, à la fin du siècle dernier, nous avons pu trouver, dans les différents ouvrages à notre connaissance, plus de soixante monstres chez 39 espèces appartenant à huit genres. Nous donnons dans un tableau, à la fin de ce travail, un résumé de ces cas tératologiques. D'après celui-ci, nous voyons que la malformation de ce *Hyalomma mauritanicum*, c'est-à-dire la présence de deux anus, a déjà été signalée neuf fois chez d'autres espèces à différents stades. Il existe également neuf cas de ces curieux et très intéressants individus chez lesquels une moitié du corps est mâle et l'autre femelle.

Par ailleurs, il est assez remarquable de constater que toutes les espèces appartiennent à la sous-famille des ixodins, aucun cas n'ayant été signalé chez les argas ou les ornithodores ; le professeur Brumpt, qui conserve à son laboratoire un élevage extrêmement abondant et varié d'Argasins, attire l'attention sur ce fait, et il semble que les cas tératologiques soient ici beaucoup plus rares encore que chez les ixodins.

Le grand nombre d'anomalies rencontrées chez les tiques se rapportant à l'espèce *Hyalomma aegyptium* est vraisemblablement dû à l'abondance même de cette tique et à la facilité que l'on a de se la procurer. Du reste, la plupart des monstres de cette espèce sont signalés par Sharif, qui les a plus particulièrement recherchés au cours d'études poursuivies aux Indes.

Les échantillons observés proviennent malheureusement le plus souvent de récoltes effectuées dans la nature, et nous n'avons aucun renseignement sur leur généalogie. Celle-ci est pourtant précieuse à connaître : c'est pourquoi, avant de décrire la nymphe monstrueuse, nous voulons donner quelques précisions sur son hérédité et son histoire.



FIG. 1. -- *Hyalomma mauritanicum* Senevet,
nymphe à deux anus, face ventrale.

Les larves, nées de la ponte d'une femelle provenant du Maroc, sont élevées sur un hérisson en septembre 1936 : les adultes qui en proviennent, après les deux mues, sont placés sur une génisse le 29 janvier 1937. Douze jours plus tard, la première femelle gorgée (265/XXII-A) tombe : elle pond un grand nombre d'œufs. Les larves, écloses, sont placées, le 28 avril, sur une nouvelle génisse : les premières mues sur l'hôte ont lieu le 11 mai, mais 150 larves, qui n'ont pas effectué encore cette mue, sont récoltées ce jour et placées à l'étuve à 26°. C'est parmi ces dernières qu'un

exemplaire cordiforme est isolé : cette tique sera du reste la seule anormale parmi toutes ses sœurs, et 400 larves examinées, nées d'une autre femelle du même lot, ne présenteront aucune malformation.

Les larves hexapodes mises à l'étuve muent bientôt à leur tour et le 19 mai, 50 p. 100 sont déjà au stade nymphal. On constate alors, parmi elles, une certaine mortalité (1). La larve à deux anus meurt elle-même le 21, avant d'avoir pu quitter son enveloppe larvaire. Celle-ci était intimement accolée à l'animal, et, lorsque nous avons voulu l'en séparer après avoir traité l'acarien par l'ammoniaque au tiers, il en est résulté des délabrements préju-

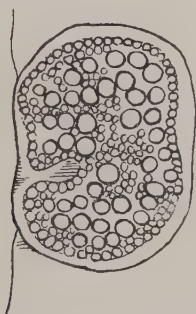


FIG. 2. — *Hyalomma mauritanicum* Senevet, nymphes à deux anus, stigmate postérieur.

diciables à son étude : ablation du palpe gauche et peut-être du rostre (à moins qu'il n'ait déjà été arraché au moment de la récolte). Par ailleurs, les pattes de la nymphe se sont durcies et recroquevillées *post-mortem* et n'ont pu prendre leur extension normale, comme on peut le remarquer sur la figure.

Cet individu présente deux anus semblables, deux stigmates latéraux paraissant égaux et un seul stigmate postérieur. Pourtant, ce dernier résulte bien de la fusion intime de deux stigmates : en effet, on peut distinguer, à sa partie postérieure, deux lobes irréguliers, dont le gauche est le plus petit. C'est ici un premier pas, depuis le stigmate unique, parfois dorsal, vers les formes très accentuées chez lesquelles on peut voir deux stigmates à peine

(1) Cette longévité éphémère des nymphes à jeun, dans le cas des tiques à deux hôtes (divers *Rhipicephalus*, plusieurs espèces d'*Hyalomma*) et des nymphes et des adultes à jeun chez les tiques à un seul hôte (*Margaropus*), est, comme l'a constaté le professeur E. Brumpt (travaux inédits), un phénomène constant en rapport avec les adaptations biologiques particulières de ces animaux qui, sur leurs hôtes, se fixent immédiatement après la mue.

ESPÈCE	STADE OU SEXE	NATURE DE LA MONSTRUOSITÉ	AUTEUR	DATE
Ixodes				
<i>I. ricinus</i>	♂	Patte IV plus grêle à droite	Neumann	1899
<i>id.</i>	N (1)	2 anus, 10 pattes	Brumpt	1922
<i>id.</i>	♀	Patte supplém. à droite. Absence d'une patte à gauche	Olenov	1931
<i>I. californicus</i>	♀	Asymétrie	Nuttall	1914
<i>I. hexagonus</i>	N	Double, 2 anus	Brumpt	1922
Amblyomma				
<i>A. aganum</i>	5 ♂	Extrémité postérieure bilobée	Beaurepaire-Aragao	1912
<i>A. cajennense</i>	?	Fusion de pattes I et II à gauche	Robinson	1920
<i>id.</i>	—	Gynandromorphisme	da Fonseca	1936
<i>A. dissimile</i>	♂	2 anus	Brumpt	1934
<i>id.</i>	—	Gynandromorphisme	<i>id.</i>	—
<i>A. fossum</i>	♂	Absence de patte IV à droite	Beaurepaire-Aragao	1912
<i>A. hebraeum</i>	♀	Asymétrie de l'écusson	Robinson	1920
<i>A. marmoreum</i>	♂	Festons irréguliers	Nuttall	1914
<i>A. neumannii</i>	—	Gynandromorphisme	Joan	1919
<i>A. scevola</i>	♂	Atrophie des pattes d'un côté	Warburton-Nuttall	1909
<i>A. scutatum</i>	—	Gynandromorphisme	Schulze	1933
<i>A. splendidum</i>	♂	Absence de festons	Warburton-Nuttall	1909
<i>A. sublaeve</i>	N	Absence de deux pattes à droite	Nuttall	1914
<i>A. variegatum</i>	—	Gynandromorphisme	Brumpt	1922
<i>A. sp. ?</i>	?	Absence de patte I à gauche	Neumann	1899
Hyalomma				
<i>H. asiaticum</i>	♂	Épine prolongeant la scapule à gauche	Delpy	1936
<i>H. dromedarii</i>	♂	Asymétrie	<i>id.</i>	—
<i>id.</i>	♂	Absence des pattes I et II à droite et II à gauche	<i>id.</i>	—
<i>H. agyptium</i>	♂	Gill supplémentaire à droite	Neumann	1899
<i>id.</i>	♂	Écussons adanauux asymétriques	Nuttall	1909
<i>id.</i>	♂	Patte supplémentaire sur patte II à droite	<i>id.</i>	1914
<i>id.</i>	♂	Écusson asymétrique	Robinson	1920
<i>id.</i>	♂	<i>id.</i>	<i>id.</i>	—
<i>id.</i>	♀	Absence de stigmate respiratoire à droite	<i>id.</i>	—
<i>id.</i>	♂	2 anus	Senevet	1922
<i>id.</i>	♂	Fusion des 2 écussons adanauux	<i>id.</i>	—
<i>id.</i>	♂	Fusion des écussons adanauux en avant de l'anus	Sharif	1930
<i>id.</i>	♂	Écussons adanauux : réduit à droite, augmenté à gauche	<i>id.</i>	—
<i>id.</i>	♂	Absence pattes III et IV à gauche	<i>id.</i>	—

(1) N = nymphe.

ESPÈCE	STADE OU SEXE	NATURE DE LA MONSTRUOSITÉ	AUTEUR	DATE
<i>H. egyptium</i>	♂	Absence patte IV et stigmaté à droite	Sharif	—
id.	♂	3 pulvilles à patte IV à gauche	id.	—
id.	♂	Absence pattes III et IV et stigmaté à droite	id.	—
<i>H. detritum</i>	♀	Absence patte III à gauche	id.	1936
<i>H. issaci</i>	♂	Gynandromorphisme	Schulze	1930
<i>H. hussaini</i>	♂	Prolongement scutellaire	Sharif	1930
<i>H. kumari</i>	♂	Inégalité des écussons adanau	id.	—
<i>H. marginatum</i>	♂	Fusion des écussons adanau	id.	—
Hæmaphysalis		Gynandromorphisme	Schulze	1936
<i>H. bispinosa</i>	♂	Asymétrie des palpes	Warburton-Nuttall	1909
<i>H. choldakowskyi</i>	♂	Absence d'une patte à gauche	Olenov	1931
<i>H. teachi</i>	♂	Absence de festons d'un côté	Nuttall	1914
Dermacentor				
<i>D. niveus</i>	♂	Absence d'une patte à gauche	Olenov	1931
<i>D. airosignatus</i>	♂	Asymétrie de l'hypostome	Robinson	1920
Rhipicephalus				
<i>R. appendiculatus</i>	♂	2 anus	Nuttall	1914
<i>R. bursa</i>	N	id.	Brumpt	1922
id.	N	id.	id.	1927
<i>R. hæmaphysaloides</i>	♂	Gynandromorphisme	id.	—
<i>R. longiceps</i>	♂	Absence patte IV à droite	Sharif	1930
<i>R. pulchellus</i>	♂	Asymétrie	Nuttall	1914
id.	♂	id.	id.	—
<i>R. sanguineus</i>	♂	Absence patte I à droite	id.	—
id.	♂	2 anus, 3 stigmates	Warburton-Nuttall	1909
id.	♂	Asymétrie	Nuttall	1914
id.	♂	id.	id.	—
id.	♂	Absence patte I à droite	id.	1930
id.	♂	Ecusson à 3 lobes	Sharif	—
id.	♂	Absence patte IV à droite, pulville IV à gauche	id.	—
Margaropus				
<i>M. annulatus</i>	♂	Absence pattes II et III à gauche	Nuttall	1914
<i>M. australis</i>	♂	2 anus, 2 pointes caudales	Warburton-Nuttall	1909
<i>M. (arobophilus) cyclops</i>	♂	Gynandromorphisme	Schulze	1937

accolés, ou même tout à fait séparés, à l'exemple de cette nymphe d'*Ixodes ricinus* (549-IV), signalée par E. Brumpt, et chez laquelle il y avait en outre deux pattes postérieures supplémentaires.

Nous n'avons, par ailleurs, remarqué aucune autre malformation.

BIBLIOGRAPHIE

- BEAUREPAIRE-ARAGAO (H. DE). — Contribução para a sistematica e biologia dos Ixodidas. Partenojenezze em Carrapatos, *Amblyomma agamum* n. sp. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, IV, 1912, p. 96-118.
- BRUMPT (E.). — Le gynandromorphisme chez les Ixodidés. Un curieux cas obtenu dans un élevage d'*Amblyomma dissimile*, *Ann. de Parasit.*, XII, 1934, p. 98-104.
- Un mâle monstrueux d'*Amblyomma dissimile* à deux anus, obtenu dans un élevage. Description de divers autres cas tératologiques observés chez les Ixodidés. *Ann. de Parasit.*, XII, 1934, p. 105.
- *Précis de Parasitologie*, 4^e édit. Paris, Masson et Cie, 1927.
- *Précis de Parasitologie*, 5^e édit. Paris, Masson et Cie, 1936.
- DELPY (L.). — Sur la tératologie du sous-genre *Hyalomma* (Kösch 1884). *Annales de Parasitologie hum. et comp.*, XIV, 1936, p. 48-54.
- FONSECA (F. DA). — Gynandromorfismo em *Amblyomma cajennense*. Notas de acareologia. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 39.
- JOAN (T.). — Caso de ginandromorfismo en una garrapata *Amblyomma neumannii* Reb. *Reunion nac. Soc. Argent. Ciencias nat. Tucuman*, 1916, Buenos-Aires, 1916, p. 421-425.
- NEUMANN (G.). — Anomalies d'Ixodidés. *Arch. de Parasit.*, II, 1899, p. 463.
- NUTTALL (G. H. F.). — Tick abnormalities. *Parasitology*, VII, 1914-15, p. 250.
- OLENEV (N. O.). — Teratologische Erscheinungen bei den Zecken (Ixodoidea). *Zool. Anz.*, XCIII, 1931, p. 281-284.
- ROBINSON (L. E.). — Malformations in ticks. *Parasitology*, XII, 1920, p. 175.
- SHARIF (M.). — A note on monstrosities observed in Ixodid ticks. *Rec. Ind. Museum*, XXXII, 1930, p. 107-112.
- SCHÜLZE (P.). — Ueber Zeckengynander. *Zeit. f. Morphol. und Oekol. der Tiere*, XXVI, 1933, p. 427-436.
- Ein bemerkenswerter Gynander der Zecke *Hyalomma detritum damascenum*, P. Sch. u. Schl., 1929. *Sitzgsber. u. Abh. naturforsch. Ges. Rostock*, VI, 1936, p. .
- Ein aussehend durch Eiverschmelzung entstandener Gynander der Zecke *Uroboophilus cyclops* Minning 1934. *Zool. Anz.*, CXIX, 1937, p. 160-166.
- SENEVET (G.). — Monstrosités chez deux tiques. *Bull. Soc. Hist. nat. Afrique du Nord*, XIII, 1922, p. 95.
- WARBURTON (C.) et NUTTALL (G. H. F.). — On new species of Ixodidae, with a note on abnormalities observed in ticks. *Parasitology*, II, 1909, p. 57-76.

Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris
(Directeur : Professeur E. Brumpt).

COMPLÉMENT AUX RECHERCHES SUR LA FRÉQUENCE DU TRICHOCÉPHALE ET DE L'OXYURE A PARIS

Par C. DESPORTES

L'exactitude d'une statistique donnée étant proportionnelle au nombre des cas envisagés, lorsqu'il s'est agi d'établir le pourcentage des individus parasités par les oxyures et les trichocéphales à Paris, le professeur Brumpt a voulu que celui-ci soit basé sur l'examen du plus grand nombre possible de cæcums et d'appendices prélevés à l'autopsie d'individus morts des affections les plus diverses. Ainsi est-il parvenu, en 1909, à en faire récolter près d'un millier à l'ancien Hôpital de la Pitié.

Après avoir examiné un grand nombre de ceux-ci, il en confie l'étude à L. Balland, qui fait porter les statistiques sur quatre cents de ces pièces dans sa thèse sur la fréquence des trichocéphales et des oxyures dans le cæcum et l'appendice à Paris.

C'est pour compléter, et peut-être pour donner encore plus de précision à l'ensemble des chiffres publiés, que nous avons, sur le conseil du professeur Brumpt, examiné les derniers viscères demeurés, pour la plupart, en parfait état de conservation au laboratoire depuis cette date : en effet, sur environ 400 de ces organes, 369 ont pu être entièrement disséqués et ne laisser aucun doute sur leur contenu — réserve faite pour les très petits oxyures, comme nous le dirons plus loin — ce qui nous a permis de donner, dans cette courte note, les quelques chiffres qui vont suivre.

Mais nous croyons intéressant de rappeler, au préalable, les pourcentages d'infection trouvés à Paris dans des conditions analogues, c'est-à-dire dans les cæcums et les appendices prélevés à l'autopsie : nous les résumons dans le tableau ci-contre.

Naturellement, nous ne devons pas oublier que l'on rencontre également ces nématodes dans l'intestin grêle et surtout dans le colon, mais en très petit nombre il est vrai. Par ailleurs, en ce qui concerne les oxyures, nous ne pouvons pas affirmer l'exactitude des chiffres donnés, puisque les mâles de cette espèce sont expulsés après l'accouplement, alors que les femelles descendent dans le rectum. Enfin, si l'appendice est, comme le disait R. Blanchard, « le recoin préféré de ces mâles », pouvons-nous être sûrs d'avoir

AUTEURS	DATE	CÆCUM			APPENDICE		
		Nbr. exam.	Trichocé- phale	Oxyure	Nbr. exam.	Trichocé- phale	Oxyure
Braun...	1903		50 0/0				
Brumpt..	1910	100	30 0/0		800	4 0/0	3,5 à 40/0
		(adultes)			(adultes)		
		?	38 0/0		13		15 0 0
Balland .	1910	(enfants)			(enfants)		
		400	51,75 0/0	11,5 0/0	388	1,55 0/0	2,84 0 0
Railliet..	1911				81	7,4 0/0	45 0 0

recueilli tous les parasites de moins de 2 mm., malgré tous les soins apportés à la dissection de pièces qui, en ce qui nous concerne, sont durcies par plus de 25 années de séjour dans le formol ?

Voici cependant les résultats que nous avons pu obtenir :

1° Trichocéphales :

Nombre de cæcums examinés (1)	369
— — — parasites	187
p. 100 — — parasites	$\frac{187}{369} = 50,7$
Nombre total de vers dans les cæcums	805
En moyenne, par individu	2,18
Nombre de vers dans le cæcum le plus parasité	82
Nombre d'appendices examinés	352
— — parasites	4
p. 100 — — parasites	$\frac{4}{352} = 1,13$
Nombre total des vers dans les appendices	4
Nombre de vers dans l'appendice le plus parasité	1

2° Oxyures :

Nombre de cæcums examinés	369
— — — parasites	31
p. 100 — — parasites	$\frac{31}{369} = 8,4$

(1) Nous avons déjà communiqué ces chiffres au professeur Brumpt, qui a bien voulu les publier dans la 5^e édition de son *Précis de Parasitologie*.

Nombre total de vers dans les cæcums	197
En moyenne, par individu	0,53
Nombre de vers dans le cæcum le plus parasité	52
Nombre d'appendices examinés	352
— — parasités	3
p. 100 — parasités	$\frac{3}{352} = \text{inf. à } 1$
Nombre total de vers dans les appendices	21
Nombre de vers dans l'appendice le plus parasité	9

Nous avons constaté la présence simultanée des deux espèces de nématodes dans quinze cas (4,25 pour 100) sur 352 individus : ce nombre ne peut nous surprendre puisque les oxyures sont trouvés dans 30 cas environ et que la moitié de la population parisienne héberge le trichocéphale. Tout au plus devons-nous en déduire que la présence de l'un des deux parasites ne gêne ou ne favorise en rien celle de l'autre.

Si nous voulons donner, d'après nos recherches, le pourcentage des individus parasités en 1909 à Paris, nous ne pouvons le faire qu'à la condition de tenir compte, d'une part, des organes complets, c'est-à-dire ceux pour lesquels l'appendice et le cæcum sont réunis, d'autre part, des organes isolés, mais parasités, puisque les individus auxquels ils appartenaient étaient sûrement porteurs de vers intestinaux. Remarquons, du reste, que l'absence d'appendice constatée à l'autopsie d'un homme dont le cæcum est parasité, peut être due à une oxyurose (Stiles, Moty, Bégouin, Ménétrier, Railliet, Brumpt et Lecène, Cauchemez, etc...) ou à une trichocéphalose (Metchnikoff, Guiart, etc...), ayant occasionné une appendicite suivie de l'ablation chirurgicale.

Et nous obtenons, pour le trichocéphale, les chiffres suivants :

Pièces complètes	352
Cæcums isolés mais parasités	7
Nombre de cas où seul le cæcum est parasité	184
» de cas où seul l'appendice est parasité	1
» de cas où les deux organes sont parasités	3

Ainsi, sur 359 individus morts des affections les plus diverses à Paris, 188 étaient porteurs de trichocéphale :

Ce qui nous donne 52,4 p. 100

De même, pour les oxyures, nous avons :

Pièces complètes	352
Cæcums isolés mais parasités	1
Nombre de cas où seul le cæcum est parasité	29
» de cas où seul l'appendice est parasité	1
» de cas où les deux organes sont parasités	2

Donc, 32 des 353 malades décédés à la Pitié, à qui appartenait ces viscères, étaient atteints d'oxyurose.

La moyenne devient 9,06 pour 100.

Ces chiffres ne sont pas, du moins en ce qui concerne les statistiques relatives aux oxyures, en accord avec les chiffres donnés par Balland, mais nous faisons immédiatement remarquer que, si le travail de cet auteur a été exécuté avec beaucoup de soin, il ne doit pas dire, comme il l'a fait, que pour trouver la fréquence du parasitisme par le trichocéphale, il suffit d'ajouter à 51,75 (pour 100 des cæcums) 1,55 (pour cent des appendices).

Fort heureusement, Balland nous donne, de la page 34 à la page 48 de sa thèse, un tableau extrêmement détaillé grâce auquel nous avons pu rectifier toutes les erreurs qui s'étaient glissées au cours des calculs et arriver aux conclusions suivantes.

1° Trichocéphales :

Pièces complètes	389
Cæcums isolés mais parasités	4
Nombre de cas où seul le cæcum est parasité	203
» de cas où seul l'appendice est parasité	1
» de cas où les deux organes sont parasités	10

Le nombre pour cent d'individus parasités est alors de $\frac{214}{393} = 54,7$ p. 100

2° Oxyures :

Pièces complètes	389
Cæcums isolés mais parasités	2
Nombre de cas où seul le cæcum est parasité	44
» de cas où seul l'appendice est parasité	2
» de cas où les deux organes sont parasités	4

Et la fréquence du parasitisme par les oxyures se trouve ramenée à 12,8.

Les pièces étudiées par Balland et par nous-même provenaient d'un même lot et nous trouvons respectivement :

54,7 et 52,4, d'une part, — 12,8 et 9,06, de l'autre.

Toutefois, ces chiffres sont bien voisins si nous les comparons à ceux donnés pour les autres villes d'Europe. N'avons-nous pas, par exemple, pour le trichocéphale, les statistiques suivantes : Dresde 2,5 pour 100, Munich 9,3 pour 100, Saint-Pétersbourg 0,18 pour 100, Dublin 89 pour 100 ?

Les chiffres que nous donnons pour 1909 sont encore bien comparables à ceux publiés par Max Braun et valables pour l'année 1880 à Paris. Si l'intérêt que peuvent présenter ces parasites dans leurs rapports avec la fièvre typhoïde est aujourd'hui de second ordre (sans compter les difficultés que l'on rencontrerait à s'assurer que les viscères récoltés proviennent d'individus non-vaccinés), il ne reste pas moins certain qu'il serait très heureux de pouvoir publier des statistiques sur la fréquence, ou peut-être la rareté des parasites intestinaux, au moyen de pièces prélevées dans les mêmes conditions, mais près de trente ans plus tard.

BIBLIOGRAPHIE

- BALLAND (L.). — *Fréquence des Trichocéphales et des Oxyures dans le cæcum et l'appendice d'individus non typhiques morts dans les hôpitaux de Paris*. Thèse de médecine, Paris, 1910.
- BLANCHARD (R.). — *Traité de Zoologie médicale*, Paris, II, 1890.
- BRUMPT (E.). — *Précis de Parasitologie*. Paris (Masson, éditeur), 5^e éd., 1936, t. I.
- BRUMPT et LECÈNE. — Un cas d'appendicite vermineuse ; présence d'oxyures dans la paroi de l'appendice. *Bull. Soc. Méd. Hôp. de Paris*, 5 fév. 1909.
- BRAUN (M.). — *Die tierischen Parasiten des Menschen*, 4^e éd., 1908.
- CAUCHEMEZ (L.). — Un cas remarquable d'appendicite à oxyures. *Ann. de Parasit.*, VII, 1929, p. 280-281.
- GUIART (J.). — Les vers intestinaux. *Traité de Méd. et de Thérap.*, de Brouardel et Gilbert, 1909.
- RAILLIET (G.). — *Les vers intestinaux dans la pathologie infantile*. Thèse de médecine, Paris, 1911.

Institut de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris
(Directeur : Prof. E. Brumpt)

SUR UNE NOUVELLE FILAIRE DU CHIEN DANS LA SERBIE DU SUD

Par T. SIMITCH, D. KOSTITCH et E. MLINAC

Déjà, en 1928, l'un de nous, en recherchant les sporozoïtes chez *A. maculipennis* de Skoplje, avait constaté qu'un grand nombre de moustiques de cette espèce étaient infectés par les larves d'une filaire. Peu de temps après, le même auteur, ayant trouvé des microfilaires dans le sang périphérique d'un chien de cette ville, conclut que les larves trouvées dans la trompe d'*A. maculipennis*, ainsi que les microfilaires trouvées dans le sang périphérique du chien, appartenaient au nématode décrit par Leidy en 1856 sous le nom de *Filaria immitis*.

Dans le but de faire une étude systématique des endoparasites du chien de la Serbie du Sud, tous les animaux capturés dans les rues de Skoplje, par la police sanitaire, ont été mis à notre disposition. Tous ces chiens, amenés à l'Institut en groupe de 5 à 10, après la prise du sang pour l'examen direct, après la coloration et après un frottis de la gueule pour la recherche des protozoaires par la culture, ont été tués et disséqués systématiquement.

Tous les parasites, découverts après la dissection des organes, ont été préparés et conservés, y compris également les frottis de la rate. Quant aux matières fécales, après l'examen direct destiné à la recherche des protozoaires à l'état vivant, elles ont été mises dans le formol, pour être conservées pour des recherches ultérieures. De cette façon, nous avons rassemblé le matériel de 165 chiens ; les résultats des recherches, opérées sur ce matériel, seront publiés ultérieurement, sauf en ce qui concerne la filaire.

A l'autopsie du premier chien, porteur de microfilaires dans le sang périphérique, nous avons été surpris de la localisation des parasites adultes. En effet, au lieu de les trouver dans le cœur ou les vaisseaux sanguins, ils ont été découverts dans un tubercule très dur, placé sous la tunique musculaire de l'œsophage thoracique. A l'ouverture de ce tubercule, de la grosseur d'une noix, mobile et très

glissant sous les doigts, nous avons trouvé une quinzaine de vers, dont aucun ne dépassait 6 cm. Ces deux constatations : localisation des parasites dans l'œsophage d'un côté et leur longueur de l'autre, étaient déjà suffisantes pour nous convaincre, que nous avions affaire à un parasite qui n'avait rien de commun avec *Dirofilaria immitis*, ainsi qu'avec aucune autre filaire, décrite jusqu'à présent chez le chien. D'autant plus que, chez les autres chiens autopsiés, le

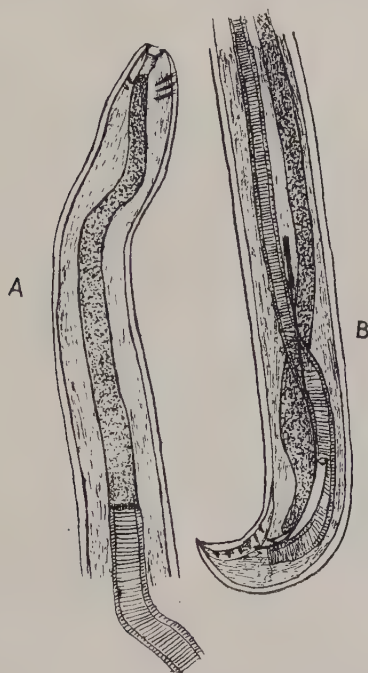


FIG. 1. — A, Extrémité céphalique du mâle; B, extrémité caudale du mâle.

résultat des recherches a été identique. En effet, chez 60 animaux sur 165, chez lesquels nous avons trouvé des microfilaries dans le sang périphérique, nous avons constaté la présence du même parasite et la même localisation, sauf pour un seul chien, chez lequel on a trouvé un tubercule avec des filaires adultes dans le poumon, à côté de deux autres tubercules placés sur l'œsophage.

Le nombre de tubercules trouvés sous la tunique musculaire de l'œsophage thoracique, endroit où vivaient les filaires adultes, variait d'un à cinq, complètement séparés l'un de l'autre. Quant à leur grandeur, elle variait de celle d'une noisette à celle d'un petit œuf de pigeon, et, chez le même chien, on trouve des tubercules de

différentes grandeurs. Le tubercule, dans la cavité duquel on trouve logés les parasites adultes, est composé d'un tissu fibreux très dur sous le couteau.

Le nombre des parasites trouvés dans un tubercule et qui sont pelotonnés autour d'eux-mêmes, varie de 4 à 30. Quant au rapport entre les mâles et les femelles, il varie également d'un tubercule à l'autre, mais, d'habitude, on trouve plus de femelles que de mâles.

Chez tous les animaux, dans le sang desquels nous avons trouvé

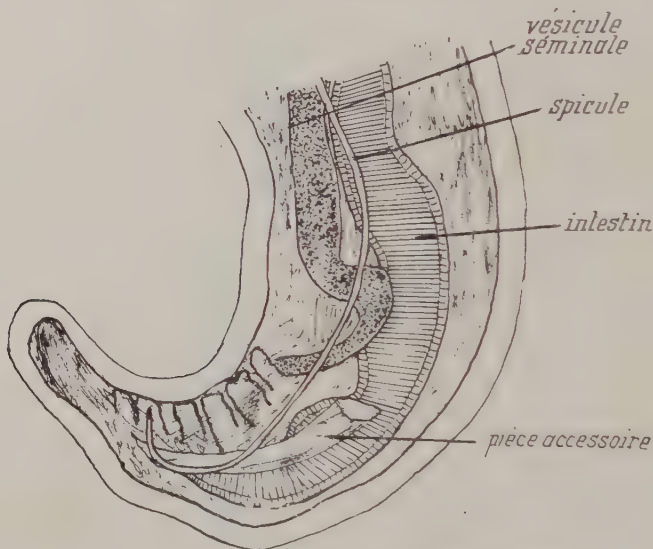


FIG 2. — Extrémité caudale du mâle agrandie.

des microfilaires, nous avons facilement constaté la présence des parasites adultes. Au contraire, chez tous les chiens, au nombre de 74, porteurs de parasites adultes, découverts après l'autopsie de l'animal, nous n'avons pas toujours trouvé de microfilaires à l'examen du sang périphérique. S'agit-il ici du petit nombre de microfilaires dans le sang périphérique ou bien, de femelles jeunes qui ne projettent pas encore de larves dans la circulation générale, nous ne saurions le dire.

Description du parasite

DESCRIPTION DU MÂLE. — Le mâle, d'une couleur blanchâtre, filiforme, mesure de 4 cm., 5 à 5 cm. de long sur 700-900 μ de large. La bouche, en forme de trapézoïde, ne présente pas de papilles. Le

pharynx, bien distinct, d'un côté, de la bouche et, de l'autre, de l'œsophage, mesure approximativement 300-500 μ de long et 120-150 μ de large. L'œsophage, qui fait suite au pharynx, mesure approximativement de 5 mm., 5 à 7 mm. de long sur 250-300 μ de large. L'intestin, nettement distinct de l'œsophage et large de 300-350 μ environ, aboutit à l'extrémité postérieure du parasite. L'extrémité postérieure, spiralée, présente deux petites ailes latérales, entre lesquelles se

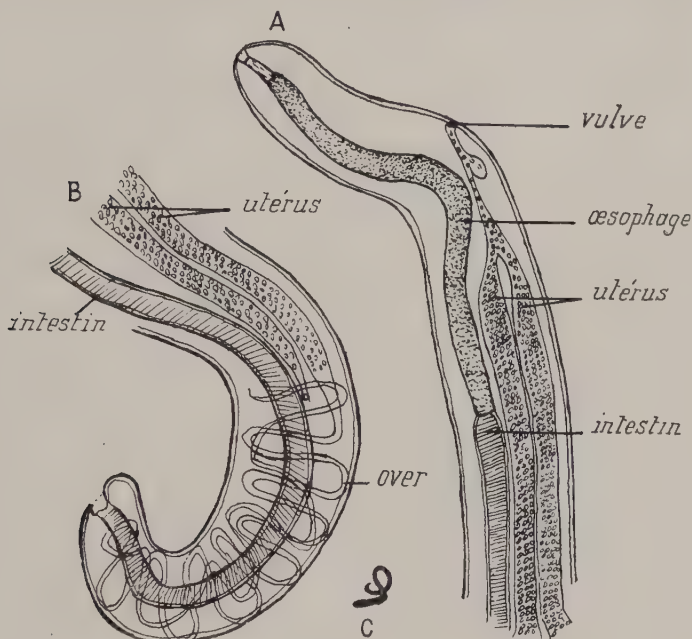


FIG. 3. — A, Extrémité céphalique de la femelle ;
B, extrémité caudale de la femelle ; C, larve sanguicole.

trouvent l'orifice génital et celui du tube digestif. A cette partie du corps du parasite, on voit nettement 6 papilles, dont deux sont post-anales.

L'organe génital mâle, composé d'une seule pièce, comprend : la vésicule séminale, le canal déférent et le testicule. A la vésicule séminale, située à l'extrémité postérieure du corps du parasite, fait suite le canal déférent et, à celui-ci, le testicule. Ce dernier monte à côté de l'intestin, jusqu'à la moitié du corps, d'où il descend pour se terminer vers le tiers postérieur du ver.

Le mâle possède un seul spicule, dont la longueur varie entre 2 mm., 5 et 2 mm., 9. La pièce accessoire, en forme de corne, mesure 620-150 μ ,

DESCRIPTION DE LA FEMELLE. — La femelle, d'une couleur rosâtre et avec l'extrémité postérieure obtuse, mesure de 5 à 6 cm., 5 de long sur 900-1.200 μ de large. Quant à la bouche, au pharynx et à l'œso-

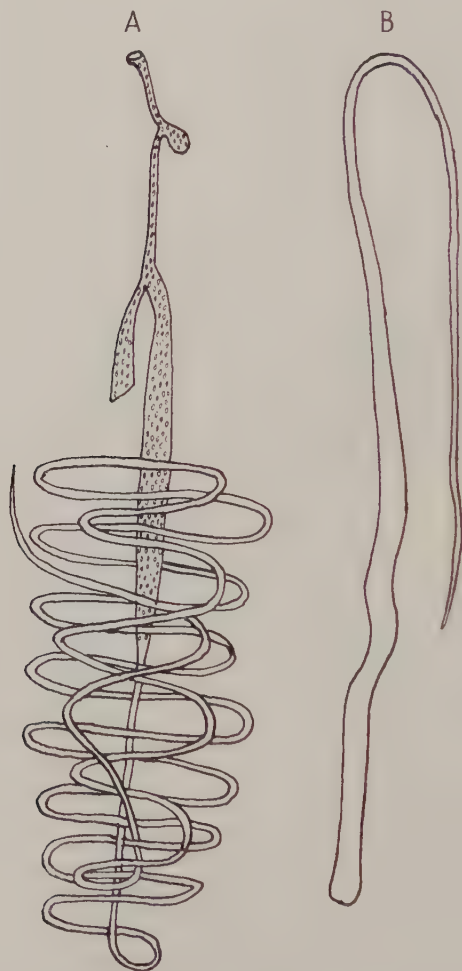


FIG. 4. — A, Appareil génital femelle ; B, appareil génital mâle.

phage, il n'existe aucune différence entre la femelle et le mâle. L'intestin, qui fait suite à l'œsophage, se termine par l'anus, situé du côté externe tout près de l'extrémité postérieure.

La vulve se trouve à la partie antérieure du corps et elle est distante de 2 mm., 5 à 2 mm., 9 de l'extrémité céphalique. Elle peut être

mise en évidence par la sortie des œufs, si on fait une pression sur l'utérus du ver vivant. De la vulve part un canal qui, après avoir présenté un gros diverticule, se bifurque en deux branches, qui ne sont pas autre chose que deux tubes utérins. Ces deux tubes utérins, larges de 250-300 μ chacun, longent l'intestin d'un côté, pour céder la place à deux tubes ovariens à 4 mm., 5-5 mm. de l'extrémité postérieure. Ces deux tubes ovariens, larges de 35-45 μ et très longs, enveloppant l'intestin, remplissent tout le tiers postérieur du parasite.

Les larves ou microfilaires, trouvées dans le sang périphérique, mesurent de 195 à 220 μ de long et 5-6 μ de large.

Quoique certains chiens aient été porteurs d'un grand nombre de parasites, dont les femelles projetaient dans la circulation générale une forte quantité de larves, il ne semble pas qu'ils en aient trop souffert, à en juger d'après l'état général des animaux examinés.

Quant à la répartition géographique de cette filaire, quoique nous ayons trouvé ce parasite seulement à Skoplje et dans ses environs, nous croyons qu'il doit être répandu dans toute la Serbie du Sud et même dans les pays voisins de cette région de Yougoslavie : Grèce, Bulgarie, Albanie, etc. Pourtant, sur 29 chiens de Bitolj (Monastir) examinés cette année, nous n'avons trouvé aucun d'eux infecté par cette filaire.

Etant donné que nous avons trouvé 3 pour cent d'*A. maculipennis* de Skoplje infectés par des larves de cette filaire, nous considérons que ce moustique doit être le principal transmetteur de ce parasite parmi les chiens de la Serbie du Sud.

RÉSUMÉ

Sur 165 chiens adultes, capturés dans les rues de Skoplje, 74, c'est-à-dire 44,8 pour cent, ont été trouvés infectés par une filaire qui se différencie nettement par sa morphologie, ainsi que par la localisation des parasites adultes, de toutes les filaires décrites jusqu'à présent chez le chien.

Les adultes, dont le mâle mesure 4,5-5 cm. et la femelle 5-6,5 cm. de long, vivent dans des tubercules spéciaux, localisés toujours sous la tunique musculaire de l'œsophage du chien.

Le principal agent vecteur de cette filaire du chien en Serbie du Sud doit être *A. maculipennis*, vu que 3 pour cent des moustiques de cette espèce ont été trouvés infectés par des larves de ce ver.

MÉTACERCAIRE DE *BRACHYLÆMUS*
CHEZ *HELICELLA OBVIA* (ZIEGLER) HARTMANN,
EN BULGARIE

Par **Robert-Ph. DOLLFUS**

Le D^r P. Pavlov, ayant reconnu la présence d'helminthes dans des *Helicella* (*Helicella*) *obvia* (Ziegler mss.) Hartmann 1844, récoltés à Tirnovo (Bulgarie), envoya quelques centaines d'individus de ce mollusque (récoltés à la fin de mai 1937), au professeur E. Brumpt. Ce matériel m'a été communiqué le 18 juin pour la recherche des helminthes et leur identification.

J'ai disséqué un grand nombre de ces hélicelles pendant la seconde quinzaine de juin et j'y ai trouvé uniquement des métacercaires d'une même espèce de *Brachylæmus*.

Dans un premier lot de cent individus, j'ai constaté 21 fois ces métacercaires ; leur nombre variait de 1 à 12 environ, par individu parasité. Les métacercaires étaient dans le rein ; quelques-unes, parmi les plus jeunes, furent cependant observées en quelques autres régions de leur hôte. Dans aucun cas, il n'y avait de sporocystes et de jeunes cercaires, l'hépatopancréas était toujours indemne.

Les plus jeunes métacercaires du rein avaient leur intestin rempli d'une substance gris-foncé qui fut reconnue résulter de l'ingestion de tissu rénal de l'hôte ; à partir d'une certaine taille, les métacercaires avaient toujours leur intestin vide.

Les larves cercaires et métacercaires des diverses espèces de *Brachylæmus* se répartissent en deux groupes : d'une part celles qui possèdent un rudiment d'appendice caudal, plus ou moins temporaire, et dont la cuticule n'est pas spinulée, d'autre part celles qui sont toujours dépourvues d'appendice caudal et dont la cuticule est nettement spinulée.

Les métacercaires que j'ai observées chez les *H. obvia* (Ziegler) envoyées par le D^r P. Pavlov, appartenaient toutes à une espèce du premier groupe.

Description. — Corps allongé et déprimé, environ trois fois aussi long que large, arrondi antérieurement, un peu atténué postérieu-

rement, avec sa plus grande largeur un peu en avant de la mi-longueur.

Cuticule complètement dépourvue de spinules et de rides ou plis, mais montrant, çà et là, des papilles sensorielles en forme de petites

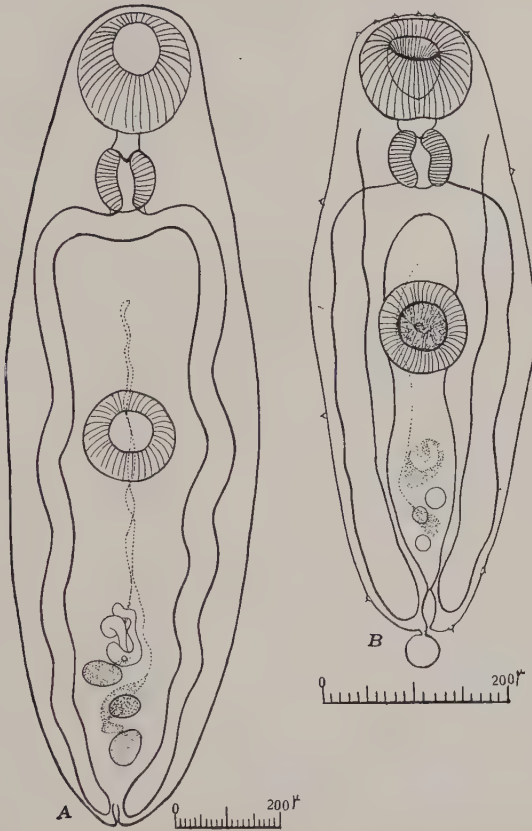


FIG. — A, Métacercaire de *Brachylæmus*, du groupe *caudatus*, après la chute de l'appendice caudal. Rein d'*Helicella obvia* (Ziegler), de Tirnovo (Bulgarie) ; B, individu de même espèce et de même provenance que celui de la fig. A, mais plus jeune, encore pourvu de son appendice caudal.

verrues d'où dépasse un minuscule bâtonnet. Ces papilles semblent plus nombreuses au voisinage de la ventouse orale, mais on en voit jusqu'à l'extrémité postérieure du corps.

La ventouse orale, à ouverture antéro-ventrale, est puissante et d'un diamètre toujours très sensiblement inférieur à celui de l'acéta-

bulum. Celui-ci est situé presque exactement au niveau de la mi-longueur du corps. Il y a un court prépharynx, toujours bien visible, un pharynx assez gros, dont le diamètre est à peu près la moitié de celui de la ventouse orale ; il n'y a pas d'œsophage ; le pharynx s'ouvre directement dans la partie transversale de l'intestin, en forme d'U renversé, à paroi très mince non godronnée, à peine ondulée, à cavité large, s'atténuant à peine postérieurement. Les cæcums suivent chacun un des bords latéraux du corps, dont ils restent séparés par un espace approximativement égal à leur diamètre ; ils se terminent, de part et d'autre de la vessie, à une faible distance du pore excréteur.

Le pore excréteur est terminal ; la vessie, oblongue, est très petite ; elle reçoit, à sa partie antérieure, les deux gros canaux excréteurs principaux ; ces deux canaux passent, un de chaque côté, ventralement au cæcum correspondant, en suivant le bord interne de celui-ci. Au niveau de la ventouse orale, chacun de ces deux gros canaux se réfléchit en dehors ; il prend une direction postérieure et arrive jusqu'au voisinage de la terminaison des cæcums ; dans toute cette seconde partie, le canal est intérieurement garni de fouets vibratiles. A son extrémité postérieure, le canal à fouets reçoit, au même point, deux canaux collecteurs de plus faible diamètre, qui lui apportent le produit déversé par les capillaires dépendant des ampoules à flamme vibratile. C'est le même type d'appareil excréteur que chez les autres espèces de métacercaires et adultes de *Brachylæmus*.

Entre les cæcums intestinaux, dans le tiers postérieur du corps, se trouvent les ébauches des testicules, de l'ovaire, de la poche du cirre, du métraterme et de la vésicule séminale ; ces ébauches ne se distinguent pas nettement les unes des autres chez les jeunes métacercaires à intestin plein ; elles deviennent plus nettes à mesure que la métacercaire approche de sa maturité ; je n'ai pas observé de métacercaire complètement mûre montrant distinctement les ébauches des vitellogènes. Chez la métacercaire la plus âgée que j'ai rencontrée (fig. A), l'ébauche utérine s'étend en avant de l'acétabulum jusqu'à une distance égale au diamètre de celui-ci.

A l'extrémité postérieure du corps des jeunes métacercaires, se trouve un rudiment caudal qui persiste souvent chez les métacercaires plus âgées, proches de la maturité. Ce rudiment a une forme globuleuse, il est presque sessile, il n'obstrue pas le pore excréteur, son point d'insertion étant immédiatement à côté du pore.

*Dimensions de quelques individus
après léger aplatissement entre lame et lamelle*

Longueur du corps.....	0,91 (0,403 + 0,508)	0,952 (0,45 + 0,537)	0,496 (0,2168 + 0,2793)	1,825 (0,8375 + 0,8875)	1,837 (0,8 + 4,0375)
Largeur.....	0,3276	0,294	0,18	0,5625	0,437
Ventouse { longitud.....	0,147	0,147			
{ transvers.....	0,168	0,168	0,080	0,251	0,22935
Ventouse ventrale diam..	0,126	0,126	0,070	0,214	0,2022
Prépharynx.....	0,05	0,005	0,004	0,041	0,042
Pharynx { longitud.....	0,0672	0,0756			
{ transvers.....	0,084	0,084	0,042	0,127	0,1251
Rudiment caudal.....	nul	nul	0,027	nul	nul

Pour la longueur du corps, je donne deux chiffres, le premier est la longueur précécabulaire.

Essai d'infestation expérimentale. — Un jeune rat, *Rattus rattus* (L.) (longueur du corps 10 cm., de la queue 9 cm.), a ingéré, les 24, 25 et 26 juin, un total d'environ 300 *Helicella* du lot parasité ; il est mort le 27 vers 15 heures et a été disséqué le même jour vers 19 heures.

Le tube digestif a été visité méthodiquement et 53 *Brachylæmus* ont été retrouvés dans l'intestin. L'intestin a été coupé en fragments qui ont été examinés séparément. Dans un premier fragment (long. 10 cm.), il n'y avait pas de *Brachylæmus* ; dans le deuxième (10 cm.), il y en avait 1 ; dans le troisième (10 cm.), 4 ; dans le quatrième (10 cm.), 39 ; dans le cinquième (10 cm.), 9 ; dans le sixième (7 cm.), il n'y en avait pas, non plus que dans les portions suivantes (cæcum et intestin postérieur).

Aucun des individus de *Brachylæmus* n'était vivant et n'était à un degré de développement plus avancé que chez l'*Helicella* ; il s'agissait de métacercaires ayant conservé les dimensions qu'elles avaient chez les *Helicella* (plus petit de ces individus du rat : $0,42 \times 0,125$; plus grand individu : $1,435 \times 0,48$) et dont les tissus montraient un début d'altération très manifeste. Il est possible que cette altération ait commencé seulement après la mort du rat.

Remarques complémentaires. — Les *Helicella*, à l'arrivée, ont été placés dans un haut bocal de verre qui fut fermé par une étoffe. Quelques individus, plus actifs, grimpèrent jusqu'en haut du bocal et vinrent se placer sur l'étoffe ; dix d'entre eux furent disséqués ; ils ne renfermaient aucun parasite. Tous les individus où furent trouvées les métacercaires étaient parmi ceux restés dans le fond

ou les parties basses du bocal. Il est possible que, dans certaines circonstances, les individus parasités manifestent une moindre activité et aient des déplacements plus faibles que les indemnes. Une observation analogue a été publiée par Ch. Joyeux, J.-G. Baer et J. Timon-David (1934, p. 414), mais ces auteurs ajoutent : « Il n'en est pas toujours ainsi, et nous avons vu plusieurs fois des mollusques parasités ayant néanmoins conservé leur agilité. »

Les *Helicella* de petite taille ont été reconnus moins souvent parasités que les moyens et les grands ; dans un lot de 20 petits individus, 2 seulement hébergeaient des métacercaires (chacun 3 métacercaires dans le rein).

RÉSUMÉ

Nous donnons la description d'une métacercaire de *Brachylæmus* du rein des *Helicella obvia* (Ziegler) Hartmann, de Tirnovo (Bulgarie).

Jusqu'à présent, il n'avait pas été signalé de trématode chez ce mollusque. Cette métacercaire a la cuticule nue et un rudiment d'appendice caudal ; elle appartient donc au groupe de *Brachylæmus caudatus* (Linstow 1873), pour lequel l'appellation « *Cercariæum helicis* Meckel » a été employée par K. Hofmann (1899).

BIBLIOGRAPHIE

Pour la bibliographie, se reporter à : *Annales de Parasitologie*, XIII, 1935, p. 73-78, et p. 479-485.

PRÉSENCE
DE *TRICHOMONAS CANISTOMÆ* HEGNER ET RATCLIFF
CHEZ LES CHIENS DE LA SERBIE DU SUD.
SA DIFFÉRENCIATION
D'AVEC *TRICHOMONAS ELONGATA* STEINBERG

Par T. SIMITCH et D. KOSTITCH

Un groupe de 165 chiens adultes, capturés dans les rues de Skoplje, a été consacré à l'étude de protozoaires buccaux. Un peu de salive était prélevée avec un tampon stérile chez chaque animal et servait à ensemencer des tubes de sérum de Loeffler-Ringer ou gélose ascite-Ringer, additionnés d'un peu d'amidon de riz, portés ensuite à l'étuve à 37° ; on examinait les cultures après 24, 48 et 72 heures.

Dans ces conditions, nous avons isolé le *Trichomonas* seul chez 21 chiens, ce flagellé et l'amibe chez 2, l'amibe seule chez un autre animal. Les 23 souches de *Trichomonas* ont été utilisées pour comparaison avec celui provenant de la bouche humaine, *T. elongata*. La fréquence de ce dernier en Serbie du Sud est variable suivant l'âge et l'hygiène buccale des individus (29 à 35 p. 100 chez les enfants des écoles de Skoplje ; jusqu'à 75 p. 100 chez les prisonniers).

D'après Hegner et Ratcliff, *Trichomonas canistomæ* est allongé, mesurant en moyenne 9 μ de longueur sur 3,4 de largeur. Il a quatre flagelles antérieurs, un axostyle à pointe particulièrement longue, un noyau allongé. Il ressemble au flagellé buccal humain, cependant on peut le distinguer par certains caractères morphologiques et biologiques : grandeur et forme du corps, longueur des flagelles et disposition de l'axostyle, rapidité de la multiplication *in vitro*, phagocytose de l'amidon du riz et des globules rouges, difficulté d'infecter le chien par le *Trichomonas* de l'homme et impossibilité d'infecter ce dernier par le flagellé du chien, etc...

D'après la taille, on peut distinguer chez le chien deux variétés de *Trichomonas*. Dans nos 23 souches, deux présentaient des flagellés dont la taille moyenne était nettement inférieure à celle des

21 autres ; cette variété plus petite a une taille sensiblement voisine de celle de *Trichomonas elongata*, tandis que la variété ordinaire est beaucoup plus grande. Mais, dans une même souche, la variation de taille est très grande, suivant les conditions de culture ; ainsi, l'addition d'amidon de riz détermine la présence de flagellés de deux à trois fois plus grands que ceux des cultures sans amidon ; en outre, dans le même tube de culture, à côté d'individus mesurant 4 μ , on en trouve dont la taille dépasse 20 μ pour la petite variété ; pour la grande, les plus petits individus mesurent 7 μ de longueur sur 3,5 de largeur, les plus grands 26 μ , 4 sur 25 μ .

La forme varie aussi beaucoup suivant la taille ; les plus petits flagellés sont allongés, tandis que les plus grands ont tendance à s'arrondir, contrairement à *Trichomonas elongata*, qui conserve toujours une forme plus ou moins allongée. La mobilité varie aussi avec la taille ; plus le flagellé est grand, moins sa progression est rapide et plus il tend à présenter des mouvements amiboïdes.

Les 4 flagelles antérieurs présentent une longueur de 16 à 18 μ et par conséquent sont beaucoup plus longs que ceux de *T. elongata*. Ils partent d'un seul blépharoplaste. L'aspect de l'axostyle varie suivant la taille de l'individu ; chez les petits, il fait saillie en arrière, tandis que, chez les grands, il n'atteint pas la membrane ondulante.

Nos 23 souches ont été isolées sur sérum de Loeffler-Ringer, mais, par la suite, nous nous sommes rendus compte que la multiplication est meilleure sur gélose-ascite-Ringer, milieu qui ne demande de repiquage que tous les 7 jours. En culture, le *Trichomonas* du chien se multiplie plus intensivement que celui de l'homme, surtout en présence d'amidon de riz. Tous deux phagocytent cet amidon, mais le flagellé du chien le fait plus généralement, plus rapidement et plus intensivement. Tous deux ingèrent les globules rouges, mais, là aussi, le phénomène est plus rapide et plus net chez le flagellé du chien. Tous deux, par contre, se comportent de même façon vis-à-vis de la chaleur, du froid et de l'eau de robinet.

Il nous reste à envisager les expériences d'infestation croisée. Les premiers essais ont été faits par Hinshaw qui a infecté des chiens à cinq reprises avec le *Trichomonas* buccal de l'homme, mais qui reconnaît que, pour la réussite, une inflammation préalable de la gencive est nécessaire.

En partant du *Trichomonas* de l'homme, nous avons réussi à infecter très facilement un homme volontaire, mais avec la même souche et la même technique, aucun chien ne s'est infecté.

Avec le *Trichomonas* du chien, nous n'avons pu infecter 3 jeunes chiens (d'un mois environ), ni un jeune loup, mais nous avons

réussi facilement avec 3 chiens adultes ; la question d'âge semble donc jouer un rôle important. Avec cette même souche canine, nous n'avons pu infecter trois hommes volontaires.

RÉSUMÉ

Dans un groupe de 165 chiens adultes des rues de Skoplje, 23 se sont montrés porteurs de *Trichomonas canistomæ*.

Ce flagellé infecte facilement le chien adulte, mais l'inoculation échoue chez le jeune chien. Il n'infecte pas l'homme.

En se basant sur les caractères morphologiques et biologiques et sur les résultats expérimentaux de l'infestation croisée, le *Trichomonas* buccal de l'homme et celui du chien doivent être considérés comme appartenant à deux espèces différentes.

BIBLIOGRAPHIE

- HEGNER (R.) et RATCLIFF (H.). — Trichomonads from the mouth of the dog. *Journ. of Parasit.*, XIV, 1927, p. 51-53.
- HINSHAW (H. C.). — Experimental infection of dogs with *Entamoeba gingivalis* and *Trichomonas* of Human mouth. *Proc. Soc. Exper. Biol. et Med.*, XXV, 1928.
-

NOUVELLES RECHERCHES DE ZYMOLOGIE MÉDICALE

Par Maurice LANGERON et Paul GUERRA

I. INTRODUCTION HISTORIQUE ET CRITIQUE

En janvier 1932, il y a donc 5 ans, l'un de nous publiait, en collaboration avec R.-V. Talice (de Montévideo), un mémoire de 80 pages sur de *Nouvelles méthodes d'étude et une nouvelle classification des champignons levuriformes*. Ce mémoire était le fruit de près de 4 ans de travail. Les résultats obtenus étaient les suivants : établissement de 6 genres, dont 3 nouveaux, basés uniquement sur un critère morphologique. Ce critère était la connaissance d'un appareil filamenteux ou pseudo-mycélium, déjà partiellement vu et figuré par divers auteurs, mais dont la signification n'avait pas été saisie et mise en évidence. Langeron et Talice ont montré que l'édification de cet appareil a lieu exclusivement par bourgeonnement, mode de multiplication très particulier et spécial aux champignons levuriformes : le type fondamental est un axe, ou filament axial, formé d'articles plus ou moins allongés, naissant par bourgeonnement et portant à leur sommet un verticille de blastospores pouvant être simple ou composé. Les verticilles sont donc régulièrement espacés sur une longueur plus ou moins grande du filament axial.

Pour faire apparaître la filamentisation des levures, Langeron et Talice n'avaient employé que deux milieux classiques très simples : un milieu liquide qui était l'eau de pommes de terre et un milieu solide qui était le milieu d'épreuve glycosé de Sabouraud, dans lequel la proportion de glycose était ramenée à 2 p. 100.

Le milieu liquide était utilisé pour des cultures cellulaires, en goutte pendante, dans lesquelles la filamentisation avait lieu facilement, mais qui ne fournissaient que des préparations fugaces. Le milieu solide était employé en couche inclinée en tubes ou étalé dans des boîtes de Roux ; la filamentisation y était capricieuse et, se développant à l'intérieur de la masse de gélose, ne pouvait être observée que par transparence, à travers la paroi de verre. L'excès de fragilité des filaments rendait presque impossible la réalisation de préparations microscopiques durables.

Malgré ces difficultés, Langeron et Talice avaient reconnu, ou cru

reconnaître, dans le mode de filamentisation, des différences assez nettes pour l'établissement de leurs six coupures génériques.

Ils avaient complètement laissé de côté le critère bio-chimique : les contradictions, les invraisemblances et la confusion auxquelles étaient arrivés les auteurs qui avaient usé de ce critère les en avaient détournés.

Notons enfin que les six genres étaient répartis en deux groupes très inégaux, suivant l'aspect macroscopique des colonies sur milieu solide : cultures lisses, crémeuses (5 genres) et cultures membraneuses, plissées (1 genre).

Pour terminer, ils ont étudié un type d'arthrosporé, le genre *Geotrichum*, souvent confondu avec les blastosporés, mais possédant un mycélium vrai et des arthrospores.

Quelques mois après la publication de ce travail, Rivalier et Seydel faisaient connaître, en septembre 1932, leur *procédé de culture sur lames gélosées*. La vue des beaux résultats obtenus avec les champignons filamenteux, et notamment les dermatophytes, fut pour nous un trait de lumière. Nous pensions posséder enfin le moyen d'obtenir des préparations colorées, conservées dans le baume et, par conséquent, durables, de l'appareil filamenteux si délicat des champignons levuriformes, cet appareil, une fois desséché dans la mince couche de gélose, restant intact au cours des manipulations. Quelques essais préliminaires nous montrèrent que cet espoir était fondé. Nous décidâmes donc de reprendre l'étude morphologique des levures au moyen de cette nouvelle méthode, espérant confirmer et préciser les diagnoses des genres établis par Langeron et Talice.

Le résultat fut tout différent de celui que nous escomptions. La morphologie apparut à la fois complexe et irrégulière, variable sur une même lame pour des raisons impossibles à préciser. Certains caractères n'apparaissaient même plus ou devenaient impossibles à apprécier avec précision.

L'existence des 6 genres de Langeron et Talice était donc bien ébranlée par la constance de ces résultats. Force fut de recourir au critère bio-chimique qui, grâce aux règles établies par Kluyver et Stelling-Dekker et à un nouveau procédé de fermentation imaginé par l'un de nous, donna enfin des résultats constants et précis, renforcés par l'emploi de la méthode auxanographique de Beijerinck, si heureusement adaptée aux *Mycotoruloïdées* par Mlle Lodder.

Nous sommes ainsi parvenus peu à peu à une simplification considérable de la systématique des *Mycotoruloïdées* et nous avons

été amenés à faire tomber en synonymie tous les genres, sauf un, et un très grand nombre d'espèces.

L'historique de la question a été donné d'une façon très complète par Langeron et Talice (1932). Nous n'y reviendrons donc pas, priant le lecteur de se reporter à ce mémoire. Nous nous contenterons de mettre en lumière quelques points essentiels.

1. Période 1910-1923. — La systématique des champignons levuriformes a obéi, jusqu'en 1923, aux idées de Vuillemin. Ce savant a jeté sur la question à la fois une grande lumière et beaucoup d'obscurité.

La lumière est venue de la classification proposée par Vuillemin en 1910 pour les hyphomycètes, et basée sur la valeur morphologique et physiologique des spores. Cette classification est si utile qu'elle a été adoptée à peu près universellement et pourra servir longtemps encore avec quelques retouches.

Vuillemin crée le groupe des *thallosporés* pour les hyphomycètes dont les spores ne sont que des fragments du thalle. Il divise ce groupe en deux catégories bien distinctes : d'une part, les *arthrosporés*, qui sont les plus simples des thallosporés, leurs *arthrospores* naissant par désarticulation des filaments en tronçons égaux ; d'autre part, les *blastosporés*, chez lesquels les thallospores sont des *blastospores*, naissant par bourgeonnement, phénomène tout à fait particulier, spécial aux champignons levuriformes.

Qu'il y ait des transitions, des formes de passage entre ces deux groupes, et nous verrons qu'elles existent, cela n'empêche pas que leurs représentants les plus typiques révèlent une différence fondamentale : chez les *arthrosporés*, le développement de l'appareil filamenteux *précède* l'apparition des spores qui sont des *arthrospores*, tandis que, chez les *blastosporés*, cet appareil filamenteux s'édifie peu à peu, par bourgeonnement successif de *blastospores* qui restent accolées les unes aux autres, les filaments *succédant* aux spores.

Au lieu d'appliquer ces idées si simples, si claires, à la systématique, l'esprit compliqué de Vuillemin n'a précisément pas su séparer, en 1914, les *blastosporés* des *Monilia*, avec lesquels ils étaient confondus. De là l'obscurité qui règne encore sur la classification des champignons levuriformes et la persistance du terme *Monilia*, appliqué indifféremment aux vrais *Monilia*, qui sont des phialidés (*groupe Gmelin* de Vuillemin), et aux levures filamenteuses (*groupe Bonorden* de Vuillemin). L'erreur était de n'avoir pas vu que les *Monilia* vrais ne sont pas des *blastosporés*, qu'ils ne bourgeonnent

pas et que leurs chaînettes de spores sont basipètes et formées de conidies naissant une à une des phialides, ce qui est tout l'opposé des champignons levuriformes, chez lesquels les chaînettes, lorsqu'elles existent, sont basifuges.

La confusion a été aggravée par le choix malheureux du genre *Cryptococcus* pour ranger les levures anascosporées peu ou pas filamenteuses et ne formant pas de chaînettes de spores.

Or le terme *Cryptococcus*, créé en 1833 par Kützing, est le modèle de l'imprécision en nomenclature : appliqué par Kützing à des algues inférieures levuriformes (espèce-type : *C. mollis*), non conservé en nomenclature algologique, il est repris par Vuillemin en 1901 pour certaines levures, sans qu'une diagnose précise en ait jamais été donnée. Il est donc nécessaire de le rayer définitivement de la nomenclature mycologique.

Le résultat de toutes ces erreurs accumulées est que le groupe des blastosporés, si naturel, si homogène et si bien défini par Vuillemin, a été coupé par ce même auteur en trois tronçons.

1. Les *levures ascosporées*, végétant généralement à l'état isolé, mais pouvant donner aussi un appareil filamenteux plus ou moins rudimentaire.

2. Les *Monilia* du groupe *Bonorden*, levures *anascosporées*, formant un appareil filamenteux généralement compliqué, à rameaux souvent terminés par des chaînettes de blastosporés, caractère d'ailleurs inconstant.

3. Les *Cryptococcus*, levures *anascosporées*, le plus souvent isolées, rarement filamenteuses et ne formant pas de chaînettes de blastosporés. D'ailleurs, bien des *Cryptococcus* se sont trouvés être des levures ascosporées méconnues.

Cette période de 1910 à 1923, date de la révolution opérée par Mlle Berkhout, est d'ailleurs dominée par les travaux d'Aldo Castellani. Ce savant a saisi toute l'importance biologique et pathologique des champignons levuriformes : laissant complètement de côté la morphologie et les considérations botaniques, il décrit de nombreuses espèces de « *Monilia* » en se basant sur une méthode purement biologique. Cette méthode consiste à séparer les espèces d'après leur action fermentative sur une série de sucres et aussi d'après quelques autres caractères biologiques de moindre valeur.

Théoriquement très précise, cette méthode, insuffisamment réglée, a conduit Castellani à multiplier exagérément le nombre des espèces ; en outre, elle se montre inopérante pour les nombreuses levures dépourvues de pouvoir fermentatif. Néanmoins, c'est aux recherches de ce savant que nous devons la connaissance d'espèces

très importantes, telles que *C. krusei*, *parakrusei*, *tropicalis*, *pseudotropicalis*, *guilliermondi*, etc..., ainsi que des caractères biologiques des types principaux.

2. Période 1923-1937. — En 1923, Mlle Berkhout a osé, la première, démembrer le genre *Monilia*, tel que le concevait Vuillemin, et élever le groupe *Bonorden* au rang de genre sous le nom de *Candida* Berkhout 1923, séparant ainsi définitivement les levures anascosporées, ou champignons levuriformes, des vrais *Monilia* (groupe *Gmelin*), avec lesquels ils n'ont absolument rien de commun. On peut dire que cette date de 1923 marque le début de la systématique rationnelle des levures anascosporées. Aussi, à la suite de la simplification à laquelle nos études de zymologie comparée nous ont amené, avons-nous conservé le terme de *Candida* comme ayant la véritable priorité, les autres dénominations étant des *nomina nuda*, sans diagnose précise et sans valeur systématique, ou simplement des entités morphologiques.

Le mémoire de Mlle Berkhout, publié en hollandais, a été très longtemps ignoré des mycologues. Nous-mêmes n'avons pu en prendre connaissance que par la traduction française due au D^r E.A.R.F. Baudet, de la Faculté vétérinaire d'Utrecht. Cette traduction, qui date de 1930, n'existe d'ailleurs que sous la forme d'exemplaires dactylographiés à la Faculté vétérinaire d'Utrecht et à Paris (Institut de parasitologie de la Faculté de médecine).

On comprend donc qu'Ota n'ait pas pu en tenir compte pour les recherches qu'il a publiées en 1926. Dans ce travail, il conserve le genre *Cryptococcus* pour les levures anascosporées non filamenteuses ; pour celles qui filamentent, il crée le genre *Myceloblastanion* qu'il subdivise en trois sous-genres : *Blastodendrion*, *Mycelozhizodes* et *Monilia*, d'ailleurs insuffisamment caractérisés et très difficiles à reconnaître lorsqu'on veut y rattacher une souche.

Nous avons cherché à retrouver, par leurs propriétés fermentatives, dans le tableau donné par Ota, les souches qu'il a étudiées. Nous avons vu qu'il ne s'agit que de levures anascosporées : il n'y a parmi ces souches aucun *Monilia* vrai. Dans le sous-genre *Blastodendrion*, l'espèce nommée par Ota *B. arztii* n'est autre que *Candida guilliermondi* Castellani 1911 ; *B. arztii* tombe donc en synonymie. Toutes les souches décrites dans le sous-genre *Mycelozhizodes* sont des *Candida albicans* parfaitement caractérisées par leurs fermentations. Quant au sous-genre *Monilia*, il renferme deux souches de *C. albicans* et trois souches dont les propriétés fermentatives ne correspondent à aucune espèce actuellement connue.

Dans un grand mémoire sur les champignons parasites de l'homme, publié en 1928, Ota conserve encore les genres *Cryptococcus* et *Myceloblastanion*, mais il renonce à subdiviser ce dernier en sous-genres. Par contre, il y adjoint les genres *Enantiothamnus* Pinoy 1911, *Cladosporium* Link 1909 et *Phialophora* Thaxter 1915. La critique du terme *Enantiothamnus* a déjà été faite par Langeron et Talice (1932) : il s'agit, non d'un sporotriché comme le croyait Pinoy, mais d'une levure anascosporée, parfaitement caractérisée par ses verticilles de blastospores et ses grands éléments levuriformes. C'était vraisemblablement un *Candidat krusei* déjà décrit par Castellani en 1909, très probablement d'origine intestinale, comme permet de le penser la localisation interfessière des abcès d'où Brault et Masselot avaient isolé la souche. Quant aux genres *Cladosporium* et *Phialophora*, on est surpris de les voir figurer parmi les blastosporés, dont ils sont très éloignés.

De 1925 à 1928, Ciferri et Redaelli ont consacré deux mémoires à l'étude et à la classification des levures anascosporées blanches ou rouges. Ces auteurs ont eu le grand mérite d'adopter le genre *Candida* Berkhout 1923 et de séparer définitivement les *Monilia* vrais (au sens de Gmelin 1791) des champignons levuriformes avec lesquels ils n'ont rien de commun. Ils ont montré aussi que les véritables *Torula* (au sens de Persoon) sont des champignons à thalle fuligineux, très différents des levures, et que les levures anascosporées sans pigment fuligineux et non filamenteuses doivent porter le nom de *Torulopsis* Berlese. Enfin, ils ont créé la famille des *Torulopsidacées*, qui rassemble toutes les levures et champignons levuriformes anascosporés, divisés en deux sous-familles : les *Torulopsidées*, pour les levures non filamenteuses, non pigmentées ou à pigment rouge, et les *Mycotorulées* pour les levures qui filamentent et qui toutes sont non pigmentées. Malheureusement ils ont introduit, dans cette dernière sous-famille, des genres disparates tels que *Candida* Berkhout, qui est le genre type des blastosporés filamenteux et *Geotrichum* Link 1809, genre type des arthrosporés. Il en résulte que les blastosporés et les arthrosporés, si heureusement séparés par Vuillemin et réellement si distincts, se trouvent de nouveau réunis dans une même sous-famille. En outre, Ciferri et Redaelli acceptent des genres extrêmement mal caractérisés, tels que *Pseudomycoderma* Will 1916, *Pseudomonilia* Geiger 1910, *Mycotorula* Will 1916, *Enantiothamnus* Pinoy 1911, *Blastodendron* Ota 1924.

Nous mentionnerons brièvement la note de Pollacci et Nannizi (1927) dans laquelle ces auteurs, sans tenir aucun compte des faits déjà acquis, reviennent pour les champignons levurifor-

mes aux gendes *Monilia* Gmelin 1791 et *Cryptococcus* Kützing 1833. Ils réunissent dans les *Monilia* tous les champignons donnant des chaînettes de spores, que ces spores soient des conidies, comme chez les vrais *Monilia*, ou des blastospores. Quant aux *Cryptococcus*, ils comprennent toutes les levures anascosporées, filamenteuses ou non, ne donnant pas de chaînettes de blastospores. On sait maintenant que la présence ou l'absence de chaînettes est un caractère très inconstant chez les champignons levuriformes. Cette note constitue donc un fâcheux retour en arrière ; elle ne fait que confirmer et aggraver l'erreur primitive de Vuillemin.

Le mémoire de Miss Benham (1931) est le premier dans lequel est donné au *C. albicans* la prépondérance qu'il mérite : ses caractères ainsi que ceux de *C. krusei* sont bien notés. L'identité de *C. albicans* et de *C. psilosis* est reconnue, ainsi que l'individualité de *C. albicans*, de *C. parakrusei* (nommé *parapsilosis*), de *C. krusei* et de *C. tropicalis* (nommé *candida*). Les caractères de la filamentisation des blastosporés sont entrevus et représentés par de bonnes figures, notamment les pseudo-conidies de *C. tropicalis* (C, fig. 4), les longues blastospores de *C. krusei* (D, fig. 4 et E, fig. 2), la forme *Myco-candida* de *C. parakrusei* (D, fig. 2 et E, F, fig. 4). Les caractères de la culture géante de *C. tropicalis* (centre membraneux, pourtour lisse) sont très bien représentés en B, fig. 1. Enfin, les chlamydospores de *C. albicans* sont très caractéristiques en C, fig. 2, sous le nom de *C. psilosis*.

Miss Benham a eu recours à une méthode sérologique (agglutination directe et absorption des agglutinines), à cause des incertitudes auxquelles avaient abouti la morphologie et les fermentations dont les données étaient, à cette époque (1931), difficiles à utiliser.

Elle a été suivie dans cette voie par plusieurs auteurs. C'est ainsi qu'Almon et Stovall (1934) ont nettement séparé, en employant les mêmes méthodes que Miss Benham, deux souches de *Torula* et trois souches de *Monilia*. Parmi ces dernières, *M. parapsilosis* (= *parakrusei*) s'est montrée nettement distincte de *M. albicans* et de *M. candida* (= *tropicalis*), qui sont sérologiquement identiques. En effet, ces deux espèces sont biologiquement voisines, car leurs groupes fermentatifs possèdent en commun la maltase, comme on le verra plus loin.

Lamb et Lamb (1935) sont arrivés, par une méthode mixte, à la fois biochimique (fermentations) et sérologique (épreuve des précipitines), à établir trois groupes dans les *Monilia* :

1. Groupe *albicans-psilosis-candida*.
2. Groupe *parapsilosis*.
3. Groupe *krusei*.

Notons d'abord que *psilosis* = *albicans* et que *candida* = *tropicalis*, d'où il résulte que leur premier groupe se ramène à la fusion de nos deux groupes *albicans* et *tropicalis*, conclusion à laquelle étaient déjà arrivés Almon et Stovall, et que retrouveront Fisher et Arnold (1936). Le groupe *krusei* est aussi très nettement délimité, puisqu'il représente les levures zymatiques simples, ne pouvant faire fermenter que les hexoses. Le groupe *parapsilosis* (espèce identique à *parakrusei*) est beaucoup moins net : il se peut que ses réactions sérologiques soient particulières, mais, au point de vue fermentatif, *parakrusei* appartient, sans conteste, au groupe *krusei* et ne peut en être séparé.

On est obligé de faire à Lamb et Lamb un reproche beaucoup plus grave : dans leur méthode, dite de fermentation, ces auteurs paraissent confondre deux propriétés radicalement distinctes : la fermentation, qui est un phénomène d'anaérobiose et qui se manifeste par la production de gaz carbonique, et l'élection des sucres, qui est un phénomène d'aérobiose. En effet, le critère employé par ces auteurs consiste à constater la présence ou la disparition des sucres au moyen du réactif de Benedikt et à suivre l'opération en contrôlant la variation du pH pendant 20 à 40 jours, suivant la concentration de la solution sucrée. Lorsque la culture donne un test chimique négatif pour un sucre, elle est considérée comme ayant fait fermenter ce sucre. L'erreur de cette conclusion est manifeste, non seulement théoriquement, mais encore du fait qu'elle s'applique à un sucre certainement non fermentescible, le xylose, qui est un pentose, non attaquable par le complexe zymase. Tout au plus, ce sucre peut-il être utilisé pour la respiration et entièrement consommé à ce titre. Quant au pH, il est évident qu'il varie au cours de l'action de ces levures sur les sucres et que, normalement, plus la fermentation est active, plus le pH s'abaisse. Mais nous verrons que ce phénomène très général (1), soumis d'ailleurs au pouvoir régulateur (tampon) de la solution sucrée, présente beaucoup de variations et ne fournit pas de données utilisables pour l'établissement des groupes biologiques de levures. Pourtant, la classification de Lamb et Lamb a été adoptée par G. Boné (1936) dans une courte note sur les « *Monilia* ». Ses *Monilia* du type II de Stovall sont toutes, d'après les caractères donnés, des *C. albicans* ; sa souche 1.210 (type III de Stovall) est un *C. tropicalis*.

(1) FLORENCE et LAFAY. — Contribution à l'étude des variations des milieux de culture sous l'influence des microorganismes. Arch. phys. biol., XII, 1935, p. 37-55.

Le mémoire de Langeron et Talice, publié en 1932, a apporté les premières données précises sur la morphologie si spéciale des blastosporés, sur leur mode particulier de filamentisation et sur leur appareil sporifère verticillé. Mais ces auteurs, poussés par le désir de classer méthodiquement les nombreuses espèces décrites, ont eu le tort de démembrer encore une fois le genre *Candida* de Berkhout, reconnu dans la suite comme très homogène. Peu après, Talice et Mackinnon (1932-1933), parmi d'autres recherches très importantes sur les Mycotoruloïdées, ont commencé le travail d'épuration qui s'impose pour ce groupe. Ils ont bien défini le type spécifique *albicans*, montré sa grande fréquence et fait tomber en synonymie avec cette espèce un certain nombre de dénominations qu'on trouvera dans nos listes de synonymes.

Les recherches de Langeron et Talice ont suscité plusieurs travaux qui reproduisent leur classification avec de légères modifications et des critiques qui ne portent pas sur le véritable point faible, c'est-à-dire sur la multiplicité des genres. Tel est le mémoire publié en 1934 par J.-M. Gomez J. de Cisneros, dont l'auteur confond encore les arthrosporés avec les blastosporés et commet d'autres erreurs capitales, notamment dans son tableau de fermentations, où figurent des substances non fermentescibles et des espèces faisant fermenter à la fois le maltose et le lactose (1). Aucun fait nouveau n'est signalé et les nombreuses figures des 10 planches qui accompagnent ce mémoire ne représentent guère que des colonies trop jeunes pour être caractéristiques, à part quelques images de chlamydospores qui ne sont même pas attribuées à *C. albicans*. Aucune des souches étudiées n'a été déterminée.

Une courte note de M. Baeza, parue en 1935, contient, outre quelques remarques judicieuses sur le non-parallélisme entre les caractères morphologiques et fermentatifs, une tentative de simplification de la classification de Langeron et Talice.

La même année (1935), Ciferri et Redaelli publient un nouveau et important mémoire sur diverses souches de Torulopsidacées déjà décrites par d'autres auteurs ou données comme types spécifiques nouveaux. Nous verrons, chemin faisant, qu'une partie de ces derniers doivent tomber en synonymie, précisément par application des critiques très justes adressées par ces auteurs à la classification de Langeron et Talice. Malheureusement Ciferri et Redaelli n'ont pas cru devoir supprimer complètement des genres qui ne correspondent qu'à des entités morphologiques : ils continuent aussi à placer

(1) Voir plus loin (p. 82) à ce sujet les lois de Kluyver-Dekker,

de vrais arthrosporés, tels que les *Trichosporum*, parmi les blastosporés.

Un des derniers travaux de zymologie médicale est celui de Martin, Jones, Yao et Lee (1937). Le titre annonce une classification pratique des *Monilia*, ce qui n'est pas tout à fait exact, à cause de la complication des méthodes et parce que la synonymie donnée par ces auteurs est souvent erronée. Il y a néanmoins un louable effort de simplification car le nombre des espèces admises est réduit à 6, qui ne forment plus qu'un seul genre, *Monilia*, choix d'ailleurs regrettable, car il perpétue une erreur et les auteurs ne disent pas ce qu'ils font des véritables *Monilia*.

Sur 153 souches, provenant surtout de crachats et du vagin, comparées à 19 espèces déjà connues, 150 peuvent être réparties entre les six espèces adoptées, dont une est nouvelle et trois portent des noms inexacts (*parapsilosis* pour *parakrusei*, *mortifera* pour *pseudo-tropicalis* et *candida* pour *tropicalis*). On ne peut qu'approuver la dominance accordée à *M. albicans* et aussi à *M. tropicalis* et *M. krusei*.

La technique compliquée, préconisée par ces auteurs, avec passage sur gélose au sang, ne paraît pas nécessaire. Notamment les caractères macroscopiques des colonies sont aussi nets sur gélose glycosée à 2 p. 100 que sur leurs milieux.

L'étude du voile est bien faite, néanmoins les voiles tardifs ont échappé à ces observateurs, car ils n'ont noté que les voiles apparus en moins de 48 heures. Leur technique de fermentation est bien réglée, mais on se demande pourquoi ils persistent à employer la mannite, la dextrine et l'inuline, qui ne fournissent aucun caractère utile, et négligent le raffinose.

On est surpris que, sur un si grand nombre de souches, les auteurs n'aient rencontré ni levures ascosporees, ni souches azymes. Mais la surprise devient de la stupéfaction lorsqu'on lit les deux tableaux des pages 119 et 120 ; on se demande comment, disposant de méthodes si précises, on a pu traiter la synonymie avec tant d'arbitraire. Il semble que les auteurs, ayant étudié un type de chacun des genres de Langeron et Talice et l'ayant fait tomber en synonymie, automatiquement toutes les autres espèces du genre doivent devenir aussi des synonymes, comme si toutes étaient identiques. Nous n'avons pas relevé dans ces tableaux moins de 18 erreurs manifestes, touchant des espèces déjà bien connues. Voici la liste de ces erreurs :

NOM DONNÉ PAR MARTIN — JONES — YAO — LEE.	NOM DONNÉ PAR LE CRÉATEUR DE L'ESPÈCE.	DÉNOMINATION RÉELLE (LANGERON ET GUERRA).
<i>Monilia albicans</i>	<i>Mycotoruloides triadis</i> .	<i>Candida triadis</i> .
Id.	<i>M. aldoi</i> .	<i>C. aldoi</i> .
Id.	<i>Pityrosporum</i> de Dowling.	<i>C. guilliermondi</i> .
Id.	<i>Monilia ashfordi</i> .	<i>C. guilliermondi</i> .
Id.	<i>M. pseudotropicalis</i> .	<i>C. pseudotropicalis</i> .
Id.	<i>M. macedoniensis</i> .	<i>Saccharomyces</i> .
<i>Monilia parapsilosis</i> ..	<i>M. parapsilosis</i> .	<i>Candida parakrusei</i> .
<i>M. candida</i>	<i>M. tropicalis</i> .	<i>C. tropicalis</i> .
Id.	<i>Blastodendron</i> <i>intermedium</i> .	<i>C. intermedia</i> .
Id.	<i>B. erectum</i> .	<i>C. albicans</i> .
<i>M. krusei</i>	<i>Geotrichoides cutaneus</i> .	arthrosporès du genre
Id.	<i>G. asteroides</i> .	<i>Trichosporum</i> .
Id.	<i>G. balzeri</i> .	<i>Candida tropicalis</i> .
Id.	<i>G. tumefaciens</i> .	? <i>C. tropicalis</i> .
Id.	<i>G. vulgaris</i> .	<i>C. tropicalis</i> .
Id.	<i>G. kefyri</i> .	<i>C. pseudotropicalis</i> .
<i>M. mortifera</i>	<i>Mycocandida mortifera</i> .	<i>C. parakrusei</i> .
Id.	<i>M. onychophila</i> .	

Notons enfin que les planches qui accompagnent ce mémoire sont excellentes, notamment les figures qui représentent les cultures sur lames de *M. albicans* (avec nombreuses chlamydo-spores) et *M. krusei*.

Sérologiquement, ces auteurs ont étudié l'agglutination et arrivent à peu près aux mêmes résultats que Benham (1931), et Almon et Stovall (1934). Leur conclusion est que les différences de structure antigénique concordent à peu près avec les types spécifiques qu'ils admettent, mais ne sont pas utilisables pour la détermination des levures, ce en quoi nous sommes tout à fait de leur avis.

En résumé, les recherches sérologiques d'Almon et Stovall, Lamb et Lamb, Boné, Fisher et Arnold, ont abouti à séparer le type *krusei*, tout à fait distinct, et à constituer un groupe *albicans-tropicalis*. Un troisième groupe, dit *parapsilosis*, correspond à notre *parakrusei*. Nous verrons qu'au point de vue fermentatif, *krusei* est, en effet, parfaitement distinct et chef de file d'un groupe ne possédant pas d'hydrolases. Pour nous, *parakrusei* appartient à ce

groupe et ne diffère de *krusei* que par l'absence de voile en eau peptonée-glycosée et le mode d'assimilation de l'urée. L'individualité de cette dernière espèce, au point de vue sérologique, peut pourtant s'expliquer, car *krusei* est une levure de l'intestin, tandis que *para-krusei* est une levure de la peau et des phanères, particulièrement localisée dans les sillons des ongles des mains.

Quant au groupe *albicans-tropicalis*, on peut encore le concevoir au point de vue fermentatif, puisque les levures qui en font partie possèdent en commun la maltase. Mais c'est ici qu'éclate l'insuffisance des procédés sérologiques, impuissants à séparer le groupe *tropicalis* qui possède, en outre, la saccharase. De plus, la localisation de ces deux groupes est assez différente, puisqu'*albicans* est surtout une levure de la bouche et de l'arrière-bouche, tandis que *tropicalis* est très nettement une levure pulmonaire.

Une mention spéciale est due à l'importante thèse de Mlle J. Lodder (Utrecht 1934). Nous devons beaucoup à ce travail pour l'établissement de notre méthode d'étude, notamment en ce qui concerne les phénomènes d'assimilation des sucres et de l'azote. Ce mémoire, rédigé avec une parfaite rigueur scientifique, constitue la première partie d'une étude générale des levures anascosporées, faisant en quelque sorte suite à l'ouvrage magistral de Mme Stelling-Dekker sur les levures ascosporées (thèse d'Utrecht 1931). Cette première partie est consacrée à la famille des Rhodotorulacées, ou levures rouges ou roses non filamenteuses, et à la sous-famille des Torulopsoïdées, c'est-à-dire aux levures blanches, non filamenteuses, ou ne donnant qu'un pseudo-mycelium rudimentaire, sans appareil sporifère verticillé. Mlle Lodder a adopté, en la modifiant très heureusement, la classification de Ciferri et Redaelli : la création d'une famille des *Rhodotorulacées* permet enfin de donner une place rationnelle aux levures anascosporées à pigment carotinoïde rose ou rouge. La famille des *Torulopsidacées* renferme toutes les levures anascosporées blanches ou jaunâtres, mais sans pigment carotinoïde. Elle se divise tout naturellement en deux sous-familles : *Torulopsoïdées* pour les formes sans appareil sporifère verticillé ; *Mycotoruloïdées* pour celles qui possèdent cet appareil. Une étude critique des espèces a permis de faire tomber en synonymie un bon nombre de dénominations parmi les Rhodotorulacées et les Torulopsoïdées.

3. Etat actuel de la question. — Cette revue critique des principaux travaux publiés avant et après 1923 montre les vicissitudes qu'a subies la systématique des champignons levuriformes. Les arthrosporés, si bien distingués des blastosporés par Vuillemin, ont

été plusieurs fois réunis à ces derniers ou confondus avec eux et de nouveau séparés. Dans le dernier essai systématique de Ciferri et Redaelli, datant de 1935, nous voyons encore de vrais arthrosporés (*Trichosporum*) figurer parmi les Torulopsidacées, qui, d'après leur diagnose, sont pourtant bien des blastosporés.

Mêmes vicissitudes en ce qui concerne le genre *Candida*, si heureusement créé par Mlle Berkhout. Le nombre des espèces susceptibles d'y être rattachées (*Monilia*) étant devenu considérable, on a tenté de démembrer ce genre en cherchant, dans la morphologie, des caractères distinctifs. Nous avons vu plus haut que ces tentatives ont toutes échoué et que la morphologie s'est montrée inutilisable pour la distinction des espèces. On a donc, d'une part, assisté à la multiplication exagérée de ces dernières et, d'autre part, aucun essai systématique de classement ne s'est montré satisfaisant.

Pour donner quelques chiffres, nous noterons que le nombre des espèces de champignons levuriformes *soi-disant* pathogènes, qui était d'une centaine en 1923, atteint en 1936 environ 200, en y comprenant les *Monilia*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Endomyces*, *Debaryomyces*. Si l'on retire les levures ascosporees correctement déterminées, et il y en a bien peu, il reste un reliquat dans lequel un examen critique, même sommaire, révèle immédiatement une centaine de synonymes, 75 à 80 *nomina nuda* ne correspondant à rien et une vingtaine tout au plus d'espèces valables.

La conclusion qui s'impose est que, jusqu'ici, on a mis la charrue avant les bœufs. Les uns ont décrit, à tort et à travers, des espèces nouvelles, sans se préoccuper ni de savoir si elles n'avaient pas déjà été décrites sous un autre nom, ni d'en donner une diagnose morphologique ou biologique précise. Les autres se sont efforcés de ranger ces espèces telles quelles dans des cadres systématiques, la multiplicité des espèces conduisant fatalement à créer des genres.

Le premier travail à exécuter était donc une révision sévère des espèces déjà décrites : établir les synonymies possibles, rayer impitoyablement les *nomina nuda*, enfin donner une diagnose précise des types qui survivent à ce triage. Pour cette diagnose, faire passer la morphologie au second plan. En effet, le groupe des blastosporés présente, au point de vue morphologique, une homogénéité extrême. L'appareil sporifère verticillé ne varie que dans de faibles limites, à l'intérieur desquelles se maintiennent toutes les formes qui filamentent : l'étude de centaines de cultures sur lames nous l'a bien montré. Chez les blastosporés, l'espèce est donc, avant tout, biologique. Il faut considérer les levures comme des protistes, vivant une existence individuelle, même lorsqu'ils sont agrégés en colonies

que nous nommons appareil filamenteux ou appareil sporifère verticillé. Quelle que soit la complication de cet appareil, c'est toujours la cellule de levure qu'il faut envisager, avec son activité physiologique intense : cette cellule ne doit pas être considérée comme faisant partie d'un corps cellulaire, comme chez les autres champignons à thalle continu ou cloisonné. Elle est, par elle-même, un être complet : la meilleure preuve en est qu'elle peut, dans certains cas, sporuler, c'est-à-dire se transformer en asque renfermant des ascospores et, dans tous les cas, donner naissance à des être semblables à elle-même, c'est-à-dire à des blastospores. Cette conception du protiste a été, depuis longtemps, remarquablement et simultanément développée par Dobell (1) et par Franz (2).

Tout ce que ces auteurs disent des protistes s'applique exactement aux levures. D'ailleurs, pour se convaincre de l'activité physiologique de ces petits organismes, il n'y a qu'à voir le dégagement presque immédiat de bulles gazeuses qui se produit dès qu'on émulsionne une anse de blastospores d'une levure-ferment dans une solution de glycose ou encore de suivre, en culture sur lame, le développement d'un arbuscule compliqué, aux dépens d'une seule cellule de levure.

Le présent mémoire n'est donc pas un nouvel essai de systématique des levures. C'est une révision critique des types spécifiques des *Mycotoruloïdées*, au moyen d'une méthode aussi rigoureuse que possible. Pour les familles et sous-familles, nous adoptons la classification si rationnelle de Mlle Lodder. Comme il faut bien donner un nom générique à ce groupe si homogène, nous choisissons celui de *Candida* qui a la priorité logique, comme nous l'avons dit plus haut. Nous savons que *Monilia* est logiquement inacceptable ; quant aux autres noms qui ont été proposés, ce sont, ou des *nomina nuda*, ou des entités morphologiques que nous conservons comme telles, mais sans leur donner de signification systématique.

Comme cette révision repose sur une série d'expériences et non sur un jeu d'écritures et de dates, nous exposerons d'abord la marche à suivre pour déterminer un champignon levuriforme : isolement des souches, recherche des asques et ascospores, caractères macroscopiques des colonies sur milieux solides, caractères des cultures en milieux liquides, étude de la morphologie microscopique, critique de la valeur des caractères microscopiques,

(1) C. DOBELL. — The principles of protistology. Arch. f. Protistenkunde, XXIII, 1911, p. 269-310.

(2) V. FRANZ. — Was ist ein « höherer » Organismus ? Biol. Ctrbl., XXXI, 1911, p. 1.

étude des caractères biologiques (fermentations, élection des sucres, assimilation de l'azote).

Une fois en possession de la méthode d'étude, nous l'appliquons aux 17 espèces que nous avons déjà pu caractériser. Nous donnons la description complète de ces espèces, ainsi que la liste des synonymes que nos recherches permettent d'y rattacher. Nous terminons par une table alphabétique permettant de retrouver toutes les espèces que nous avons pu arriver à caractériser, soit comme types, soit comme synonymes de ces types.

II. MARCHE A SUIVRE POUR LA DÉTERMINATION D'UN CHAMPIGNON LEVURIFORME. REVUE CRITIQUE DES PROCÉDÉS EMPLOYÉS

Nous exposons, dans les lignes qui suivent, la méthode que nous employons et que nous conseillons pour la détermination des champignons levuriformes. Nous discutons en même temps la valeur systématique des caractères ainsi mis en évidence.

I. Isolement. — Dans l'ordre logique, la première opération à effectuer est l'isolement d'une souche à partir d'un produit naturel ou pathologique.

Cet isolement doit toujours se faire sur un milieu glycosé solide, le milieu type étant la *gélose glycosée* à 2 p. 100 et peptonée à 1 p. 100 (1).

Quelques auteurs ont employé le milieu d'épreuve maltosé de Sabouraud. Cette pratique est absolument à déconseiller, non seulement à cause de la proportion trop élevée de sucre, mais surtout parce qu'il y a des levures qui se développent très mal sur maltose, alors que toutes assimilent suffisamment le glycose.

Ensemencement. — Il ne doit pas être fait par points séparés : il faut, au contraire, étaler, à la surface de la gélose, le produit à étudier. Au point de vue médical, il est en effet très important de connaître la richesse en levures d'un produit pathologique. L'étalement permet, par le nombre de colonies qui apparaissent, d'évaluer approximativement la teneur en germes.

Les tubes seront portés à l'étuve à 25°. Cette température est bien suffisante, certaines levures se développant mal à 37°.

II. Purification des souches. — Il va de soi qu'on ne doit procéder à une détermination qu'en partant de souches absolument pures.

(1) Le milieu d'épreuve glycosé de Sabouraud, employé fréquemment, a une teneur beaucoup trop élevée en sucre et ne convient pas du tout pour les champignons levuriformes.

Les impuretés les plus fréquentes sont les bactéries. On s'en débarrasse assez facilement en cultivant la souche en *liquide de Raulin* acide, à 25°, pendant 3 à 5 jours. On est quelquefois obligé de faire deux passages par Raulin pour arriver à une purification complète. On s'assurera de la pureté de la souche, soit par un examen à l'état frais dans le Lugol double, soit en faisant un étalement et en le colorant par le bleu de toluidine à 1 p. 100 ou par le May-Grünwald-Giemsa.

Infections latentes. — Ce contrôle microscopique ne suffit pas toujours pour être assuré de la pureté d'une souche. Il existe, en effet, des infections latentes des souches de levures par des bactéries ou d'autres germes. Tant que les levures sont cultivées sur gélose glycosée, ou en général sur des milieux acides, favorables aux champignons, ces infections latentes ne se manifestent pas parce que ces milieux sont défavorables aux bactéries. Mais dès qu'on porte la souche dans un milieu qui leur est favorable (lait, gélatine, etc.), l'infection devient évidente. *Ce fait est très important à connaître*, car il explique, en grande partie, les résultats insolites et inconstants obtenus par quelques auteurs qui ont employé la méthode de Castellani pour la détermination des espèces. En effet, avec les épreuves de la coagulation du lait et de la liquéfaction de la gélatine, on arrive à doubler le nombre des espèces obtenues par la méthode des fermentations. Notre opinion est que souvent les épreuves positives au lait et à la gélatine sont dues à des infections latentes.

Un exemple remarquable d'infections latentes chez les champignons levuriformes est donné par la thèse de G. Bourguignon (1906).

Dans ce travail de 220 pages, l'auteur s'efforce de démontrer que le champignon du muguet peut, outre les formes levures et globulo-filamenteuses, prendre les formes microbiennes les plus variées : bacilles, spirilles, leptothrix, staphylocoques, diplocoques, cocci en chaînettes, etc... L'auteur affirme que chacune de ces formes peut être obtenue en culture pure, qu'en partant de la culture pure d'une forme quelconque, on peut revenir à des cultures mixtes et qu'on observe toutes les formes intermédiaires possibles entre cocci et levures, bacilles et levures, bacilles et filaments.

Pourtant, en 1906, on savait déjà faire des cultures pures. On connaissait aussi le liquide de Raulin qui date de 1870 et qui permet de purifier facilement les cultures de levures.

Dans l'histoire de cette curieuse méprise, on retrouve tous les caractères des infections latentes : apparition des bactéries, au bout d'une quinzaine de jours, dans des cultures de levures en appa-

rence pures ; disparition de ces bactéries par ensemencement sur carotte ; leur réapparition par ensemencement sur gélose ou bouillon non sucrés, favorables au développement des bactéries, cette réapparition pouvant demander de 3 à 15 ou 60 jours ; obtention des levures sans bactéries, mais jamais de bactéries sans levures, sauf lorsqu'on réensemence de très vieilles cultures dans lesquelles les levures sont mortes.

La lecture de ce mémoire est très instructive et montre combien il peut être difficile de se débarrasser des bactéries, même avec une technique en apparence rigoureuse. Le meilleur procédé actuellement connu est l'emploi du liquide de Raulin en passages successifs ou encore de milieux liquides très acides, pouvant aller jusqu'à pH², comme le bouillon acidifié par HCl employé en 1933 par Pijper pour l'étude des levures des crachats.

Mélanges de souches. — Autant il est, en général, facile, au moyen du Raulin, de purifier une levure d'un germe bactérien, autant il est difficile de séparer deux levures en mélange dans la même culture.

Quelquefois, on reconnaît le mélange facilement et d'emblée d'après l'aspect macroscopique des colonies. Ainsi, en partant d'un ongle, nous avons obtenu, dans le même tube, trois espèces différentes de levures : *Candida parakrusei*, *Debaryomyces tyrocola* et *Klöckeria ferrandi*.

Quand l'aspect macroscopique des espèces est très différent, il suffit, pour isoler les colonies, d'étaler dans des boîtes de Pétri des émulsions très diluées.

Une fois, en présence des propriétés biologiques et des caractères morphologiques insolites d'une de nos souches, nous avons soupçonné un mélange. Pensant, d'après les propriétés biologiques, que ce mélange comportait deux espèces, nous avons préparé deux milieux, l'un favorisant une espèce, l'autre une autre. Après plusieurs passages, nous sommes, en effet, arrivés à obtenir une culture pure de chacune d'elles : il s'agissait d'un mélange de deux *Candida* : *C. albicans* et *C. krusei*.

Ce cas n'est pas un fait exceptionnel. Il explique l'existence d'espèces douées de caractères extraordinaires qui n'ont plus jamais été retrouvées. La méthode des cultures monospores, soit par le procédé à l'encre de Chine, soit au moyen d'un micromanipulateur, permettra toujours de résoudre ces cas difficiles.

III. Recherche des asques. — La recherche des asques est une des premières étapes de la détermination d'un champignon levuriforme. Il existe souvent, en effet, une grande similitude de mor-

phologie et de propriétés biologiques entre ces champignons et les levures ascosporees. C'est ainsi que les *Monilia macedoniensis* Castellani 1917 et *M. macedoniensoides* Cast. 1926 sont en réalité des *Saccharomyces* donnant des ascospores caractéristiques. Il en est de même pour le *Monilia inexpectata* Mazza, Niño et Eguez 1930 avec lequel Talice et Mackinnon (1934) ont pourtant obtenu un pseudomycélium du type *Mycocandida*.

Les milieux les plus favorables à la production des ascospores sont surtout les milieux pauvres, tels que le milieu de Gorodkova (1) et les tranches de carotte, mais la gélose glycosée à 2 p. 100 est aussi un bon milieu pour certaines espèces. Pratiquement, il est donc nécessaire d'essayer ces trois milieux dès que la souche à étudier est purifiée.

Le *temps d'observation* doit être très prolongé, pendant au moins deux mois et souvent plus, car le *délai d'apparition* des asques est très variable. Il faut donc faire des prélèvements tous les 15 jours.

Au cours de ces examens, la difficulté est de reconnaître les asques avec certitude, ce qui n'est pas toujours facile, surtout lorsque les ascospores sont très petites, par exemple dans le genre *Debaryomyces*. Les erreurs commises à ce sujet ne se comptent plus. Nous venons de mentionner des cas où les ascospores ont été méconnues. Il est bien plus fréquent de prendre, pour des ascospores, des inclusions diverses, surtout des gouttelettes de lipides qui sont très fréquentes chez les levures. Un exemple bien connu est le prétendu *Endomyces albicans* Vuillemin 1899 = *Endomyces vuillemini* Landrieu 1912 = *Endomycopsis albicans* (Vuillemin) Dekker 1931, qui n'a été vu qu'une fois par Vuillemin et n'a jamais été réellement retrouvé ni par lui, ni par aucun autre observateur. Il faut maintenant considérer ces dénominations comme ne correspondant à rien de réel et comme des *nomina nuda* ou *nomina delenda* n'ayant plus qu'un intérêt historique. Le *Candida albicans* est la levure la plus fréquemment isolée, des milliers de souches ont donc été étudiées par de très nombreux observateurs : si la forme ascosporee décrite par Vuillemin existait réellement, elle n'aurait pas pu passer inaperçue.

Nous disposons de deux moyens pour reconnaître les ascospores avec certitude.

1. *L'examen direct dans le Lugol double* : cette coloration montre

(1) Pour le mode de préparation de ce milieu et, en général, pour toute la technique mycologique, se reporter au *Précis de microscopie* de M. LANGERON, 5^e édition, Paris, Masson et C^{ie}, 1934.

très nettement les ascospores, mais elle ne donne la certitude que pour un œil exercé.

2. La *coloration élective* des ascospores par la *méthode de Kufferath*. Cette méthode est basée sur une propriété remarquable de la membrane des ascospores mûres : cette membrane est, d'une part, acidophile, d'autre part acido- et alcoolo-résistant. L'acidophilie des ascospores mûres est une propriété très générale dans toute la classe des ascomycètes, aussi le Mann biacide est-il un excellent colorant pour les coupes de périthèces : les ascospores y sont colorées électivement en rouge vif très lumineux. La méthode de Kufferath utilise l'acido- et l'alcoolo-résistance. Elle donne des résultats très nets et incontestables, parce que les ascospores sont seules colorées et tranchent en rouge vif sur le fond gris de la préparation, ce qui permet de les déceler rapidement, même si elles sont très peu nombreuses (1).

Nous avons un peu modifié le procédé primitif de Kufferath et nous opérons comme il suit :

1° *Emulsionner* sur une lame, dans une goutte d'eau distillée, filtrée et stérilisée, une très petite parcelle de la culture à examiner.

2° *Chauffer* la lame sur la veilleuse du bec Bunsen (directement ou par l'intermédiaire d'une platine chauffante), en la tenant d'une main avec une pince, tandis que, de l'autre, on étale l'émulsion au moyen du fil de nichrome ou d'une effilure de pipette. Il est indispensable de continuer l'étalement pendant tout le temps que la goutte met à sécher, de manière à obtenir une dispersion aussi uniforme que possible des cellules de levure, car les amas épais empêchent de voir distinctement les ascospores et leur forme.

Ce chauffage, qui peut aller jusqu'à l'ébullition, n'altère en rien la forme et l'aspect des asques et des ascospores, que cette opération a fixées.

3° La lame étant sèche et fixée, *colorer* par la fuchsine phéniquée de Ziehl, en chauffant jusqu'à l'ébullition, sans cependant que la surface de la préparation se dessèche. Laisser refroidir, *laver à l'eau* et nettoyer les bords de la préparation.

4° *Différencier* dans l'alcool chlorhydrique à 1 p. 100 ou dans l'acide lactique à 2 p. 100 et arrêter l'action de l'acide par un lavage à grande eau. La différenciation ne dure, en général, que quelques

(1) Castelli (*Boll. Ist. sieroterap. milanese*, XIII, 1934, p. 778-781 et XIV, 1936, p. 631) emploie, pour mettre en évidence les ascospores des levures, une méthode un peu analogue à celle de Kufferath (coloration par le Ziehl dilué, puis par une solution hydro-alcoolique de bleu de méthylène). Cette méthode est bien postérieure à celle de Kufferath, qui date de 1929, et n'utilise pas l'acido-résistance de la membrane des ascospores mûres.

secondes, mais ce temps varie avec l'espèce étudiée et avec le degré de maturité des ascospores.

5° *Colorer le fond*, pendant 30 secondes, par une solution de bleu de Nil à 1 p. 100.

6° *Laver* à l'eau distillée.

7° *Egoutter* sans sécher complètement.

8° Pendant que la lame est encore humide, étaler sur la préparation, avec une pipette fermée, une goutte d'*encre de Chine*.

9° Laisser sécher et monter au baume.

Dans une préparation réussie, les ascospores mûres sont colorées en rouge, les asques apparaissent en blanc sur le fond noir : on pourra voir leur forme et les phénomènes de copulation s'ils existent ; les cellules végétatives sont colorées en vert par le bleu de Nil.

L'emploi du bleu de Nil n'est pas indispensable, mais c'est le seul colorant qu'on puisse employer pour les cellules végétatives, tous les autres bleus étant décolorés par l'encre de Chine.

III. CARACTÈRES MACROSCOPIQUES DES COLONIES SUR MILIEUX SOLIDES

Milieu solide. — Pour étudier les caractères macroscopiques des colonies développées sur milieu solide, nous avons adopté, comme milieu-type, la *gélase glycosée* à 2 p. 100 et *peptonée* à 1 p. 100. Les produits employés sont ceux qui servent à la préparation du milieu d'épreuve glycosé de Sabouraud, c'est-à-dire le *glycose massé* et la *peptone granulée* de Chassaing.

Il est certain que les levures peuvent se développer sur un support quelconque, pourvu qu'on leur fournisse l'aliment glycidique dont elles ont besoin. Mais nous avons adopté ce milieu parce qu'à notre avis, il présente de nombreux avantages :

1° Il convient très bien au développement des champignons levuriformes.

2° Il est facile à préparer, bon marché et toujours pareil à lui-même, ce qui n'est pas le cas pour le moût de bière gélosé, qui ne présente d'ailleurs pas d'avantage spécial et qui, dans certains endroits, est difficile, ou même impossible, à se procurer.

3° C'est un milieu relativement pauvre en glycides et qui, par conséquent, favorise la filamentisation et même, dans certains cas, la formation des asques.

Nous estimons *parfaitement inutile* l'emploi parallèle de divers milieux usités en bactériologie, parce qu'ils sont plus ou moins impropres au développement des champignons levuriformes. On encombre ainsi les descriptions de détails inutiles, en général

communs à toutes les levures, et dont l'abondance masque les faits réellement importants. Certains auteurs croient nécessaire de décrire la culture d'un champignon sur le plus grand nombre possible de milieux ; il y a peu de renseignements utiles à tirer de ce fatras. Ce qui peut être intéressant, dans certains cas, c'est l'emploi de milieux spéciaux, d'une composition chimique définie, auxquels on demande une réponse nette et précise, mais alors on n'a que faire de la description de la culture.

Colonies géantes. — A l'époque où l'on ne connaissait pas encore la filamentisation des champignons levuriformes, ni les moyens de la faire apparaître, on cherchait à utiliser les caractères macroscopiques de colonies lentement développées dans des vases de culture à large surface (matras coniques, boîtes de Roux, etc.). Il est certain que, si l'on fournit à une levure un milieu très abondant, sur une large surface convenablement aérée, elle aura, en général, tendance à former une colonie très étendue. Cette extension, proportionnelle à la surface utilisable, n'a en soi rien de caractéristique, puisqu'elle dépend des dimensions du vase. Ce qui peut être caractéristique, c'est l'aspect de la colonie à un âge déterminé, quelle que soit sa dimension. Ce qu'on doit donc étudier, ce n'est pas la colonie géante, mais la *colonie adulte*, qu'on peut obtenir aisément dans un tube à essai ordinaire. Les colonies géantes nous paraissent donc actuellement inutiles.

Colonies adultes. — Nous nommons colonie adulte une colonie qui a cessé de s'accroître, ce qui dépend évidemment de la quantité de milieu qui lui est offert et de la surface dont elle dispose. A un certain moment, il s'établit un équilibre entre le champignon et le milieu aux dépens duquel il vit. C'est ce moment-là qu'il faut choisir pour décrire la colonie, car après, elle vieillit, ses caractères s'effacent et le milieu se dessèche. La maturité d'une colonie est évidemment d'autant plus précoce que le milieu est moins abondant et, en ce sens, on peut presque dire qu'il y a des colonies géantes microscopiques. La taille d'une colonie n'a donc rien à voir avec ses caractères macroscopiques, puisqu'elle dépend uniquement des dimensions du vase de culture. Notre expérience nous a appris qu'au bout d'un mois, dans un tube à essai ordinaire, une colonie de champignon levuriforme a acquis ses caractères définitifs.

Mode d'ensemencement. — Nous ensemençons en deux points séparés, surmontés par une strie dans la partie haute du tube, au voisinage de la paroi de verre, dans la zone où la couche de gélose inclinée est très mince,

Nous obtenons ainsi trois « colonies géantes » de dimensions différentes, mais d'aspect tout à fait comparable. La présence de trois colonies permet d'éliminer de la description des caractères accidentels ou accessoires auxquels on pourrait attribuer de l'importance si on n'avait qu'une seule colonie.

La strie terminale permet d'observer la filamentisation à travers la paroi du tube, ce qui, pour quelques espèces, est assez caractéristique pour permettre de les reconnaître.

La strie n'a d'intérêt que si elle est courte et terminale. L'ensemencement total en une seule strie ne donne pas de caractères suffisants parce qu'en somme, c'est un ensemencement massif et la colonie cesse de s'accroître avant d'être arrivée à maturité. En réalité, une longue strie n'équivaut pas à une colonie, mais à une infinité de colonies confluentes.

Principaux caractères macroscopiques des cultures. — 1° *Couleur.* — La couleur qui, pour d'autres champignons, est un caractère variable et secondaire, présente, pour les champignons levuriformes qui nous occupent, une grande importance. En effet, la couleur de ces champignons varie du blanc au crème plus ou moins sale ; jamais ils ne sont colorés en rouge.

Toutes les levures rouges forment un autre groupement homogène (genre *Rhodotorula* Harrison 1928), chez lequel la coloration est due à un pigment carotinoïde ; ces levures rouges possèdent en outre des caractères morphologiques (absence de filamentisation) et biologiques tout à fait nets.

Les levures et champignons levuriformes noirs appartiennent au genre *Torula* Persoon 1796 ; outre leur pigment fuligineux caractéristique, ils ont une morphologie très spéciale qui leur est particulière.

2° *Aspect et consistance.* — Langeron et Talice avaient basé leur classification sur l'opposition qu'ils avaient cru remarquer entre colonies crémeuses et colonies membraneuses. Un examen plus prolongé et plus approfondi des colonies a montré que cette opposition n'est qu'apparente. En réalité, tous les champignons levuriformes donnent des colonies crémeuses, la colonie membraneuse n'étant en somme qu'une variété de colonie crémeuse.

La colonie crémeuse (1) pure est celle dont on peut prélever une parcelle sans entraîner autre chose que le point touché par le fil à

(1) Les arthrospores du genre *Trichosporum* développent des colonies pâteuses et cérébriformes, bien différentes des colonies crémeuses ou membraneuses des blastosporés blancs. Ces colonies pâteuses se morcellent au contact du fil et elles sont adhérentes au milieu,

ensemencer. De plus, la partie prélevée s'émulsionne immédiatement et uniformément dans une goutte d'eau.

Dans une colonie membraneuse, au contraire, on entraîne, avec le fil, des parties voisines de celle qui a été directement touchée. On peut même, dans certains cas, entraîner toute la membrane en en touchant un seul point. La partie prélevée ne s'émulsionne que partiellement dans une goutte d'eau, la majeure partie formant des grumeaux.

Deux ordres de faits nous ont détourné de maintenir une distinction fondamentale entre colonies membraneuses et colonies crémeuses :

1° Il y a des espèces dont les colonies sont à la fois crémeuses et membraneuses, par exemple *Candida tropicalis*, dont la plupart des souches donnent des colonies à centre membraneux entouré d'une auréole crémeuse plus ou moins large.

2° Les colonies d'une espèce donnée, habituellement toujours crémeuses, peuvent, dans des conditions encore mal définies, devenir membraneuses. D'autres souches se dissocient en deux formes, crémeuse et membraneuse. Nous observons ces variations depuis longtemps : elles ont été signalées, d'autre part, par Negroni en Argentine et par Mackinnon en Uruguay.

Nous reviendrons sur cette question dans un chapitre spécial.

3° *Etat de la surface.* — La surface peut être lisse ou plissée. En général, les colonies crémeuses sont lisses, tandis que les colonies membraneuses sont plus ou moins plissées. Mais une culture plissée n'est pas forcément membraneuse ; c'est le cas de *Candida intermedia*, *C. brumpti*, *C. flarerii*. Les cratères et mamelons qui apparaissent sur certaines colonies sont des caractères tardifs et ne présentent aucun intérêt.

La surface peut être brillante, humide, comme si elle était recouverte d'un vernis, ou bien mate, sèche, comme si elle était finement saupoudrée de talc. D'autres fois, la colonie est mate, mais présente des marbrures brillantes, comme si la fine pellicule qui paraît la recouvrir s'était déchirée par endroits.

Ce caractère de sécheresse ou d'humidité est très important pour la systématique. En effet, toutes les cultures sèches présentent un voile net dans les milieux liquides, ce qui n'implique d'ailleurs pas que les colonies humides ne puissent pas, elles aussi, produire un voile.

La distinction entre colonies mates et brillantes n'est pas non plus absolue. Ainsi, certaines espèces peuvent être mates au début, puis devenir brillantes (*Candida tropicalis*) ; d'autres sont toujours

mates, sauf quand elles vieillissent (*Candida krusei*). Le caractère de matité peut aussi s'associer à d'autres caractères.

Caractères secondaires. — Outre les quatre caractères fondamentaux : *couleur, état crémeux ou membraneux, surface lisse ou plissée, brillante et humide ou mate et sèche*, il faut tenir compte aussi de quelques caractères secondaires, par exemple :

1° Les *bords* des colonies, qui peuvent être régulièrement arrondis (*Candida parakrusei*) ou festonnés (*C. krusei*, *C. aldoi*).

2° La présence ou l'absence de *filamentisation* visible sur les bords de la colonie.

Valeur des caractères macroscopiques. — Aucun de ces caractères n'est absolument constant et spécifique ; on peut rencontrer des anomalies dont nous parlerons plus loin. Cependant, une description des colonies basée sur nos quatre caractères fondamentaux peut être assez précise pour permettre, dans certains cas, une détermination presque certaine. C'est, par exemple, le cas du *Candida krusei* : voici la diagnose de sa colonie :

Colonie *blanche, crémeuse, sèche, lisse* ou très légèrement plissée au centre ; bords festonnés, entourés d'une couronne de filaments longs et sinueux qui courent à la surface du milieu sans y pénétrer.

Cette description suffit à caractériser *C. krusei*, car aucune autre espèce de levure ou de champignon levuriforme ne donne de colonies présentant cet ensemble de caractères.

IV. CARACTÈRES DES CULTURES EN MILIEUX LIQUIDES

Les caractères des cultures en milieu liquide sont aussi importants, pour la délimitation et la détermination des espèces, que l'aspect macroscopique des colonies sur milieux solides.

Milieu de culture. — Le choix du milieu doit être guidé par les mêmes principes que ceux qui ont présidé au choix du milieu solide. Nous nous sommes donc arrêtés à un milieu glycosé à 2 p. 100 et peptoné à 1 p. 100, qui ne diffère de notre milieu solide que parce qu'il n'est pas gélosé.

Ce milieu avait déjà été recommandé par Talice et Mackinnon à la suite de leurs recherches sur le voile des champignons levuriformes (1932). Mais ces auteurs prenaient 1 gr., 80 de peptone au lieu de 1 gr. Il nous a paru préférable d'avoir une même proportion de peptone dans nos deux milieux, solide et liquide.

Matériel. — Ce milieu liquide est réparti dans des *tubes à essai ordinaires* (18 cm. \times 18 mm.). Les matrass coniques ou les ballons à fond plat nous ont paru trop encombrants. Après essai, nous en avons rejeté l'emploi, car ils ne donnent pas de résultats supérieurs à ceux qu'on obtient avec les simples tubes.

Ensemencement et culture. — L'*ensemencement* est fait avec une trace de culture sur milieu solide. Les tubes sont portés à l'étuve à 25° et observés pendant 20 jours. Au-delà de ce délai, les renseignements tirés de cette épreuve deviennent confus et perdent une partie de leur valeur systématique.

Epreuves de température. — Nous avons renoncé à pratiquer les épreuves classiques en zymologie pour la mise en évidence des températures *optima*, *maxima* et *minima* d'apparition du voile. Cette étude, qui peut être intéressante pour la distinction de races et de souches, est inutile pour la détermination des espèces.

Caractères fondamentaux. — Le caractère principal des cultures en milieu liquide est la présence ou l'absence de voile. La présence d'un anneau constitue aussi un caractère intéressant.

Anneau. — L'*anneau* est constitué par une colonie annulaire qui se développe dans l'angle formé par la rencontre de la paroi du tube avec la surface du liquide. On peut considérer l'anneau comme un voile incomplet.

Voile. — Le *voile* est une colonie aérienne qui recouvre plus ou moins complètement la surface libre du milieu liquide. En effet, le voile peut être dissocié en *îlots* qui flottent à la surface du liquide sans adhérer à la paroi.

Le voile, suivant son aspect, peut être *membraneux* ou *muqueux*.

a) Le *voile membraneux* est formé de *filaments* enchevêtrés qui s'étendent d'une paroi du tube à l'autre. Ces voiles sont en général fortement adhérents à la paroi ; on peut même dans certains cas (*Candida suaveolens*) incliner fortement le tube sans renverser le liquide. Si, par agitation, on arrive à les détacher, ils tombent au fond du tube. Il se forme ainsi un dépôt stratifié, constitué par la chute successive de plusieurs voiles.

Les voiles membraneux présentent, en général, une surface plissée et les plis ne sont pas déformés par l'inclinaison du tube.

b) Le *voile muqueux* est formé de *cellules* flottant à la surface du liquide ; il s'accompagne généralement d'un *anneau* qui monte très haut le long de la paroi du tube. Quand on agite le tube, on voit des fragments de l'anneau monter par capillarité le long de la paroi,

aussi le voile muqueux ne donne pas l'impression d'être adhérent à la paroi. L'agitation fait, en outre, tomber au fond du tube de nombreux grumeaux ou simplement un nuage de blastospores, ce qui rend le liquide trouble.

Le voile muqueux n'est jamais complètement immergé, il reste toujours, à la surface du liquide, une pellicule très fine.

Ce voile peut être, ou bien humide, semi-transparent, ou *blanc*, par suite des bulles d'air emprisonnées, et *mat*. Quand il est bien développé, il peut former de petits plis.

Le *voile muqueux* est constant pour toutes les souches qui donnent des colonies mates. C'est le voile typique du *Candida krusei* et ce voile est absolument semblable à celui d'*Hansenula anomala*.

Il y a des espèces qui peuvent présenter successivement les deux types de voile. Ainsi, *Candida tropicalis* forme, au début, un voile muqueux qui devient membraneux par la suite.

Valeur systématique des voiles. — La présence d'un voile, si les conditions de son apparition sont bien précisées (milieu, température, date d'apparition), est un caractère de première importance pour la détermination des espèces. Ainsi, un des caractères qui distinguent *Candida triadis* de *C. albicans* est l'apparition, vers le 5^e jour, d'un voile muqueux dans les cultures de *C. triadis*.

Signification biologique. — On considère généralement le voile comme un caractère d'aérobiose, et c'est assez rationnel, puisqu'il se développe en surface. Nous avons cependant vu apparaître des voiles en pure atmosphère d'anhydride carbonique, sans le moindre mélange d'air (*Candida lodderi*). Il y a donc d'autres facteurs que l'oxygène qui provoquent ce développement en surface. Un voile membraneux peut apparaître aussi dans les tubes de fermentation de *C. albicans*, après que le bouchon de paraffine a été chassé vers le haut ; il se forme donc aussi en atmosphère carbonique.

Caractères secondaires. — Ce sont les caractères de l'anneau, la présence ou l'absence d'un dépôt ou d'un trouble. Ces détails sont intéressants à noter, mais ils n'ont pas d'importance systématique.

V. TECHNIQUES D'ÉTUDE DES CARACTÈRES MICROSCOPIQUES DES CHAMPIGNONS LEVURIFORMES

Nous distinguons deux catégories de procédés pour l'étude de la morphologie microscopique des champignons levuriformes : les uns sont destinés à montrer la morphologie des formes levures, c'est-à-

dire des blastospores, les autres à mettre en évidence les colonies microscopiques typiques, c'est-à-dire l'appareil sporifère verticillé.

A. Etude de la morphologie des blastospores. — Le procédé bactériologique classique de l'étalement fixé et coloré, soit au Gram, soit au bleu de toluidine, peut être utile pour l'examen des prélèvements cliniques, mais il est à proscrire pour l'étude mycologique proprement dite. D'ailleurs, pour l'examen des étalements de produits pathologiques, le procédé panoptique May-Grünwald-Giemsa donne toujours des résultats incomparablement supérieurs. Il ne présente pas les inconvénients des méthodes bactériologiques, qui contractent les cellules de levures et rendent méconnaissable leur structure interne, à tel point qu'il est quelquefois même impossible de reconnaître des levures dans des préparations ainsi traitées.

D'ailleurs, les réactions tinctoriales si utiles en bactériologie, le Gram en particulier, ne sont d'aucune utilité pour la détermination des levures. Il n'y a pas, en effet, de levures Gram-positives ou Gram-négatives. Ce sont des êtres beaucoup plus volumineux et complexes que les bactéries et ils ne prennent ce colorant, d'une manière homogène et intense, que lorsqu'ils sont très jeunes. Les levures plus âgées se colorent partiellement ou même pas du tout. Le caractère de la réaction de Gram doit donc disparaître de la diagnose des espèces.

1. *Examen dans le Lugol double.* — Le procédé le plus simple et le plus recommandable pour l'étude des formes levures est l'examen à l'état frais, entre lame et lamelle, d'une parcelle de la colonie dans une goutte de Lugol double. Ce réactif met en évidence tous les détails de la structure interne utiles à connaître au point de vue systématique ; il respecte entièrement la forme et les dimensions des cellules. Les préparations ainsi obtenues ne peuvent être conservées. Elles sont peu propres à la photographie à cause des mouvements des cellules.

2. *Procédé à l'encre de Chine.* — Ce procédé permet d'obtenir très facilement des préparations permanentes, excellentes pour la microphotographie.

Mélanger sur une lame une goutte d'eau distillée, filtrée et stérilisée, avec une gouttelette d'encre de Chine spéciale pour la micrographie.

Emulsionner, dans la goutte ainsi préparée, une trace de culture. Etaler légèrement, comme pour un étalement de sang, et laisser sécher à plat, à l'étuve à 37°.

Pour examiner, déposer sur la tache d'encre une goutte d'huile

de cèdre et recouvrir d'une lamelle. Ces préparations se conservent indéfiniment, donnent de très belles photographies et montrent parfaitement la forme et le contour des cellules, dont les dimensions sont très peu ou pas du tout modifiées. Par contre, la structure interne est à peu près invisible.

3. *Coloration des capsules.* — L'examen direct dans le Lugol est généralement suffisant pour mettre en évidence la capsule chez les levures qui en possèdent.

Pour la colorer, employer la fuchsine phéniquée de Ziehl, comme dans le procédé de Kufferath pour la coloration des ascospores. Après coloration, rincer à l'eau, puis couvrir la lame de Lugol pendant une minute. Différencier ensuite très rapidement dans l'alcool chlorhydrique faible (à 0,50 p. 100). Rincer à l'eau, sécher et appliquer l'encre de Chine, comme pour la coloration des ascospores.

Par ce procédé, les capsules restent incolores, mais les cellules de levures sont colorées en rouge et le fond de la préparation est noir, ce qui rend les capsules très visibles... lorsqu'elles existent.

B. Etude de l'appareil sporifère verticillé dans les colonies microscopiques. — La meilleure méthode pour l'étude de l'appareil sporifère verticillé est incontestablement celle des cultures sur lames gélosées de Rivalier et Seydel : ce procédé donne des préparations très belles et d'une conservation indéfinie. D'autres méthodes peuvent aussi rendre des services dans certains cas : nous allons les passer rapidement en revue.

1. *Cultures en goutte pendante.* — Ce procédé, largement utilisé par Langeron et Talice, n'est, en somme, pas favorable à l'étude des champignons levuriformes, pour laquelle il présente de multiples inconvénients. La culture se fait, soit en milieu liquide glycosé à 2 p. 100 et peptoné à 1 p. 100 (non gélosé), soit plus simplement en eau de pommes de terre. Ce procédé classique, dû à Van Tieghem et Lemonnier, est longuement décrit par l'un de nous dans son *Précis de microscopie* (1). Aussi nous bornerons-nous à en indiquer les inconvénients pour le cas qui nous occupe.

Les blastospores ensemencées, au lieu de rester séparées, obéissent à la pesanteur et s'accumulent dans la partie déclive de la goutte, qui est aussi la plus éloignée de l'objectif du microscope. Aussi, lorsque la filamentisation a lieu, il se forme une masse

(1) M. LANGERON. — *Précis de Microscopie*, 5^e édition, 1934, p. 1118-1122. Collection des Précis médicaux, Paris, Masson et C^{ie}.

touffue dans laquelle les détails sont peu visibles ; la filamentisation ne se produit pas toujours, parce que le milieu liquide est défavorable à certaines espèces.

L'appareil sporifère formé en milieu liquide est d'une excessive fragilité, aussi est-il endommagé ou détruit par les moindres secousses, inévitables au cours de la manipulation et de l'examen des cellules. Pour la même raison, il est très difficile d'obtenir des préparations durables à cause de la nécessité de retourner les lames pour les dessécher, ce qui ne peut se faire sans secousses.

Enfin, le milieu étant peu abondant, la végétation est rapidement arrêtée par épuisement et évaporation de ce milieu, et on ne peut obtenir l'aspect des vieilles cultures, qui est quelquefois très caractéristique (*Candida tropicalis*).

2. *Prélèvement de colonies en milieu liquide.* — Les mêmes reproches peuvent être adressés à ce procédé de prélèvement, précédemment employé par Langeron et Talice. Au moyen d'une pipette non effilée, c'est-à-dire d'un morceau de tube de verre muni d'une tétine, on prélève délicatement des colonies flottantes en milieu liquide, dans un tube, et on les dépose sur une lame. On laisse sécher à l'étuve à 37° et on colore. L'extrême fragilité du pseudomycélium rend ce tour de main très aléatoire.

3. *Observation à travers la paroi du tube.* — Ce procédé, simple et commode, est applicable aux cultures en tubes sur milieux solides inclinés. Il se pratique en fixant le tube sur la platine du microscope au moyen de deux petites masses de cire à modeler. On peut arriver à employer un grossissement assez considérable en ayant recours à de très forts oculaires, combinés avec des objectifs faibles ou moyens. Bien entendu, on ne peut pratiquer cette observation que lorsque la filamentisation s'est produite, ce qui demande, sur milieu solide, un temps assez long.

L'aspect des colonies ainsi observées est très trompeur à cause de la réfraction et des jeux de lumière. Aussi cette méthode, utile avant l'ère des cultures sur lames gélosées, a beaucoup perdu de son intérêt. Elle permet encore de reconnaître certaines espèces, par exemple le *Candida albicans*, lorsqu'il donne des chlamydospores, très visibles par ce procédé, ou le *C. parakrusei*, reconnaissable à sa ramification en rameau de sapin et à la présence, dans les vieilles cultures, de longues chaînettes formées de très gros éléments.

4. *Coupes de cultures.* — Il ne s'agit pas ici de coupes au microtome, après inclusion à la paraffine, mais d'un procédé beaucoup plus simple, permettant de voir facilement les filaments profonds et d'obtenir des préparations durables.

Dans un tube où la filamentisation est bien développée, nettoyer la surface du milieu au moyen du fil de nichrome et la bien laver à l'eau. Chauffer légèrement le tube pour en extraire un tronçon de milieu que l'on découpe, avec une lame de rasoir, en tranches de un à deux millimètres d'épaisseur. Placer ces tranches à plat sur une lame et les laisser sécher à l'étuve pendant 4 ou 5 jours. Colorer ensuite (de préférence à l'érythrosine) comme une culture sur lame.

5. *Cultures en cellules sur lamelles gélosées.* — Ce procédé, imité de celui de Fortner (1), permet d'observer au microscope, à de forts grossissements, le développement des champignons levuriformes en milieu gélosé et de suivre longtemps l'évolution des colonies qui finissent par prendre les caractères des cultures âgées. Cette méthode tient à la fois des cultures en goutte pendante et des cultures sur lames gélosées.

Prendre de très grandes lamelles (25×50) ; pour les géloser, on les pique horizontalement dans un bloc de cire à modeler, puis, avec une pipette chargée de milieu gélosé fondu, on en dépose sur chaque lamelle une goutte qu'on étale rapidement avant solidification. On retourne brusquement le bloc de manière à placer les lamelles face en-dessous et onensemence en étalant, à la surface de la gélose, une émulsion très pauvre. On place ensuite chaque lamelle, toujours face en-dessous, sur un anneau de verre collé à la paraffine ou à la lanoline sur une lame ordinaire, comme pour les cultures en goutte pendante. Nous avons fait faire dans ce but des anneaux ovales en verre étiré, permettant l'emploi de très grandes lamelles et le développement de grandes colonies. Ces anneaux mesurent 4 cm. de grand axe et 2 cm. de petit axe. Au fond de la cellule, on verse quelques gouttes d'eau distillée stérile et on colle la lamelle au bord supérieur de l'anneau avec de la lanoline, en ayant soin que la fermeture soit hermétique. Il est inutile d'enlever le milieu gélosé qui se trouve sur les bords de la lamelle. Les cultures ainsi obtenues peuvent être arrêtées, séchées et colorées, comme il est expliqué ci-après.

6. *Cultures sur lames gélosées.* — Ce procédé est certainement le meilleur pour obtenir des préparations durables, dans lesquelles tous les éléments de l'appareil sporifère verticillé sont parfaitement en place. Le seul défaut de cette méthode est qu'elle ne permet pas l'observation microscopique du développement des colonies.

(1) J. FORTNER. — Die Mikroskopie der aëroben und anaëroben Oberflächenkolonien auf hängendem Agar. *Ztrbl. f. Bakt.*, I, Orig., CXV, 1929, p. 96-99.

Nous avons été amenés à modifier le procédé primitif de Rivalier et Seydel pour l'appliquer à l'étude des champignons levuriformes. Voici comment nous conseillons de procéder :

a) *Matériel.* — Stériliser à l'avance, par la chaleur sèche, une série de tubes Borrel, garnis chacun d'un prisme de verre triangulaire et de trois lames.

Rivalier et Seydel emploient des boîtes de Pétri. Nous préférons, pour le travail en grande série, les tubes Borrel pour les raisons suivantes : 1° économie de place ; 2° facilité de manipulation ; 3° moindre danger de contamination par les moisissures de l'air ; 4° les lames tenues verticalement présentent des zones d'humidité et d'épaisseur différentes, ce qui réalise, en certains points, les conditions optima pour la filamentisation ou pour l'apparition de tel ou tel caractère.

b) *Préparation des lames gélosées.* — On peut géloser les lames en les saisissant simplement avec une pince et en les trempant dans un tube Borrel contenant le milieu gélosé fondu, puis en les replaçant horizontalement dans leurs tubes respectifs.

Cette manière de faire est simple et rapide, mais elle présente deux inconvénients : le premier est de modifier le milieu par suite du temps nécessaire à sa liquéfaction ; en outre, les milieux conservés en tube Borrel s'infectent très facilement, d'où un sérieux gaspillage de gélose, car ces milieux ne peuvent servir qu'une fois.

Le second inconvénient est que, par trempage, la couche obtenue est toujours de la même épaisseur et en général trop mince pour la culture des champignons levuriformes. De plus, lorsque la lame est placée verticalement dans le tube aussitôt après le trempage, la gélose a tendance à couler vers le bas, laissant le haut dégarni, de sorte que cette partie se dessèche trop vite. Si on maintient la lame horizontalement pendant un temps suffisant pour que la gélose se solidifie, on court grand risque d'infection par les poussières atmosphériques.

Pour remédier à ces inconvénients, nous gélosons les lames à la pipette, de la manière suivante :

Les tubes Borrel, préalablement stérilisés comme il est dit plus haut, sont rangés en série, presque horizontalement, et soutenus par une bande de cire à modeler. On règle leur position de sorte que la lame supérieure soit horizontale.

Le milieu est conservé dans des tubes à essai ordinaires ; on le liquéfie ainsi très rapidement au bain-marie au moment de s'en servir. On puise dans les tubes avec une pipette coudée à angle droit et munie d'un tube de caoutchouc pour l'aspiration.

Tenant la pipette de la main droite, on ouvre les tubes Borrel de la

main gauche, en tenant l'ouverture du couvercle dirigée en bas. La position horizontale du tube empêche les poussières de tomber sur les lames. On dépose alors une grosse goutte de gélose sur la lame supérieure horizontale et on l'étale. On referme le tube et, après un flambage rapide de la pipette, on passe au tube suivant. Une fois la série terminée, la gélose des premières lames a eu le temps de se solidifier, on tourne alors chaque tube d'un tiers de tour, de manière à présenter une seconde lame horizontalement, et on recommence jusqu'à ce que toutes les lames soient gélosées.

Nous faisons, en général, deux lames minces par tube et une lame plus épaisse. On peut encore géloser chaque lame avec un milieu différent.

c) *Ensemencement*. — Une fois les lames gélosées, on les ensemeince. Deux écueils sont à éviter quand on ensemeince en partant d'un milieu solide :

1° Déchirer la gélose avec le fil ; 2° faire un ensemeinement trop massif.

On évite l'un et l'autre en employant, au lieu du fil, une pipette très effilée, capillaire. Nous faisons en général deux stries parallèles, assez loin des bords de la lame. Les filaments ont tendance à se développer plus abondamment vers la périphérie, où ils sont, en général, longs et touffus. Au contraire, la partie comprise entre les deux stries contient des filaments moins longs et moins abondants, mais en général plus faciles à étudier.

Si on ensemeince en partant d'un milieu liquide, il suffit de déposer une goutte d'émulsion sur la partie supérieure de la lame, puis d'appliquer la pipette pour l'étaler.

Au cours de l'ensemeinement, on flambe l'orifice des tubes Borrel comme pour un tube ordinaire dans lequel le bouchon de coton est remplacé par un couvercle.

Une fois l'ensemeinement terminé, on garnit le fond du tube d'eau stérilisée ou de liquide de Raulin, sur un centimètre de hauteur environ, afin d'assurer aux lames une atmosphère humide. Mais habituellement, cette précaution ne suffit pas et, pour obtenir de belles cultures sur lames, il faut mettre les tubes Borrel eux-mêmes en chambre humide. Nous nous servons pour cela de gros bocaux à conserves à couvercle de verre pouvant permettre un bouchage hermétique. On les garnit au fond d'eau distillée sur environ un centimètre de hauteur et on y place les tubes Borrel. Ensuite, avec le bec Bunsen retourné, on chauffe l'air intérieur du bocal, de manière à le raréfier et à favoriser la production de vapeur d'eau, puis on ferme hermétiquement en appliquant le couvercle

préalablement enduit de lanoline, ainsi que le bord du bocal. On s'assure que le joint de lanoline ne présente pas de lacunes.

Les cultures peuvent ainsi être mises à 25° ou à 37° et rester humides et vivantes pendant très longtemps.

Nous considérons l'emploi de ces bocaux comme indispensable : la plupart des insuccès tiennent, en effet, à une dessiccation trop rapide des parties minces de la lame gélosée, justement là où la filamentisation est la plus favorable pour l'étude.

Ces bocaux permettent, en outre, de faire des cultures en anaérobiose relative, en remplaçant l'air par de l'anhydride carbonique provenant d'un obus à gaz carbonique liquéfié ou plus simplement d'un appareil de Kipp. On fait arriver le gaz carbonique par un tuyau plongeant jusqu'au fond du bocal : l'air, plus léger, est peu à peu déplacé.

Ce procédé a déjà été préconisé par Magnusson pour la culture de l'*Actinomyces israeli*, qui est aussi un anaérobie préférant. Pour les levures, le gaz carbonique, non seulement favorise le développement des colonies en empêchant l'aérobiose, mais encore il joue un rôle direct en accentuant la filamentisation. C'est le *phénomène de l'élongation* déjà observé par Teodoresco (1899), Fineman (1921), M. Molliard et Crépin (1934), puis récemment par M. Molliard (1935). Les nouvelles expériences de Molliard ont porté sur le lupin, le pois et la pomme de terre. Les faits que nous avons observés avec les levures concordent parfaitement avec ce que ces observateurs ont obtenu pour les phanérogames. L'allure de l'élongation est même beaucoup plus accentuée pour les levures, comme nous le verrons en décrivant les espèces.

d) *Milieux pour lames gélosées.* — Ce procédé permet évidemment l'emploi des milieux gélosés les plus variés. Pour les champignons levuriformes, nous nous contentons de deux milieux : la *gél ose glycosée* à 2 p. 100 et *peptonée* à 1 p. 100 et le milieu dit P.C. (*pomme de terre-carotte*) :

Eau ordinaire	1.000 cm ³
Pulpe de pomme de terre	20 gr.
Pulpe de carotte	20 gr.
Gélose	20 gr.

Laisser macérer les pulpes dans l'eau pendant une heure, faire bouillir pendant cinq minutes, filtrer au coton et ajouter la gélose. Porter, à l'autoclave, à 120°, en montant lentement avec les précautions habituelles. Filtrer de nouveau au coton, répartir en tubes et stériliser à 120° pendant quinze minutes.

Ce dernier milieu (P.C.) donne une filamentisation plus rapide, plus nette et plus abondante. La présence de la carotte et la pauvreté du milieu favorisent, en outre, l'apparition des asques s'il s'agit d'une levure ascosporee.

Il nous paraît nécessaire d'employer ces deux milieux, car il y a des levures qui ne filamentent bien que sur l'un d'eux et certains détails morphologiques apparaissent de préférence dans un milieu plutôt que dans l'autre.

Il est inutile de se préoccuper du pH. La légère acidité de ces milieux est très favorable au développement des champignons levuriformes et ses légères variations n'ont aucune action sur la filamentisation.

e) *Durée de la culture sur lames gélosées.* — Cette durée est très variable ; aussi, pour avoir une notion complète du développement d'une levure, nous sortons une lame le 2^e jour, une autre le 7^e jour et la troisième seulement au bout de 15 à 20 jours.

f) *Coloration des cultures sur lames gélosées.* — Il est nécessaire d'examiner les lames dès qu'elles sont sorties des tubes Borrel, pendant qu'elles sont encore humides. On reconnaît ainsi l'état du développement et on apprécie certains détails qui apparaissent mieux qu'après dessiccation.

Avant de colorer les lames, il faut effectuer les opérations suivantes :

1. *Enlever, avec un scalpel,* toutes les parties crémeuses ou sail-lantes qui gêneraient le montage sous lamelle et nettoyer soigneusement l'envers de la lame.

2. *Dessiccation complète* à l'étuve à 37° pendant 4 ou 5 jours. Ce temps a une très grande importance, le succès de la coloration dépendant, en grande partie, d'une bonne dessiccation.

3. *Fixation* en déposant, sur la lame bien sèche, quelques gouttes d'alcool absolu que l'on allume.

4. *Coloration sur lame,* pendant 2 à 4 minutes, par une solution d'érythrosine à 1 p. 100. On peut suivre la coloration au microscope.

5. *Différenciation.* Sans laver à l'eau, égoutter et laver à l'alcool absolu.

6. *Déshydratation et montage.* Achever la déshydratation par l'alcool absolu, éclaircir au toluène et monter au baume.

La coloration à l'érythrosine ne réussit pas toujours, surtout avec les vieilles cultures où il y a beaucoup de filaments vides. Dans ce cas, il est préférable d'employer la *coloration au bleu coton*

acétique (1 gr. de bleu coton C4B et 3 cm³ d'acide acétique cristallisable pour 100 cm³ d'eau distillée). Après 2 à 5 minutes de coloration, laver à l'eau, différencier par l'alcool à 90°, puis déshydrater et monter comme plus haut.

7. *Coloration des chlamydospores et des asques.* Employer la méthode de Kufferath telle qu'elle est décrite plus haut. Pour les lames gélosées, il faut *chauffer le colorant par-dessus*, en dirigeant la flamme de la veilleuse sur le liquide et non en chauffant la lame par-dessous, pour ne pas faire fondre ou se soulever la couche de gélose. Après coloration, ne pas ajouter d'encre de Chine.

Valeur de la méthode des lames gélosées. — La culture sur lames gélosées est, à notre avis, le meilleur procédé pour l'étude de la morphologie des champignons levuriformes. Toute détermination sérieuse doit comporter l'étude d'une culture sur lame gélosée.

VI. EXAMEN CRITIQUE

DE LA VALEUR DES CARACTÈRES MORPHOLOGIQUES

L'étude des caractères morphologiques ne doit pas être négligée en zymologie médicale. C'est une étape indispensable au cours du travail de détermination d'une souche. Cette étude est d'ailleurs bien facilitée maintenant que nous possédons des méthodes permettant de confectionner des préparations inaltérables (étalements dans l'encre de Chine et cultures sur lames montées au baume). On peut constituer ainsi des collections de préparations types, permettant des comparaisons rapides.

La morphologie décidera d'abord du groupe auquel doit être rattaché le champignon à étudier : *Candida*, *Torulopsis*, levure ascosporée, etc. On évitera ainsi les fausses routes dont on pourrait citer bien des exemples. La morphologie permettra aussi de reconnaître immédiatement certaines espèces : *Candida tropicalis* à ses chaînettes simples ou ramifiées issues de pseudo-conidies, *C. guilliermondi* à ses blastospores très petites, *C. krusei* à ses blastospores allongées, *C. parakrusei* au dimorphisme très accentué de ses blastospores, *C. brumpti* à ses longues chaînettes ramifiées ou réunies en pinceaux et formées d'articles étirés, *C. albicans* à ses chlamydospores, etc.

En dehors de ce point de vue purement pratique, il est nécessaire de déterminer la valeur systématique des caractères morphologiques des champignons levuriformes. En d'autres termes, ces caractères permettent-ils à eux seuls d'établir des coupures généri-

ques et de délimiter des espèces, ou bien devons-nous enregistrer l'échec de la méthode purement morphologique et recourir nécessairement aux méthodes biologiques pour classer et déterminer ces champignons ? La réponse à cette question dépend de la conception que l'on se fait des champignons levuriformes. L'appareil filamenteux et sporifère compliqué, décrit par Langeron et Talice, est-il comparable au thalle d'un ascomycète ou d'un phycomycète filamenteux ou même à un végétal supérieur, c'est-à-dire à un être autonome, pourvu d'organes différenciés, ou bien est-ce seulement un agrégat fragile et instable d'individus, à la vérité issus les uns des autres par bourgeonnement, mais capables de mener une vie indépendante et la menant effectivement dès qu'ils se trouvent séparés ?

Nos recherches nous ont amené à adopter ce dernier point de vue. Pour nous, comme nous l'avons dit dans notre introduction, les levures et champignons levuriformes doivent être considérés comme des protistes, c'est-à-dire comme des êtres unicellulaires, doués d'une très grande activité physiologique et dont le cytoplasme accomplit toutes les fonctions dévolues aux organes chez les êtres dits supérieurs. Nous renvoyons encore une fois, pour ce sujet, à la pénétrante étude que Dobell a consacrée, il y a 26 ans (1911), aux protistes (1).

L'appareil filamenteux et sporifère des champignons levuriformes devient ainsi, non point l'homologue d'un végétal supérieur, mais une simple colonie de protistes, colonie dont chaque membre mène son existence propre et peut, sans inconvénient, être séparé de ses voisins. Ce ne serait pas le seul exemple de colonies de protistes ; les *Dinobryon*, les *Halobryon*, par exemple, qui sont des flagellés aquatiques, vivent aussi en colonies formant des arbuscules. Il y a d'ailleurs bien d'autres exemples, tels que les *Dendromonas*, *Rhipidodendron*, *Anthophysa*, etc.

Cette notion de colonie en arbuscule concorde parfaitement avec la définition du pseudo-mycélium donnée par Langeron et Talice (1932). Ce pseudo-mycélium est formé de blastospores, nées les unes des autres, pouvant subir un étirement ou un allongement plus ou moins considérable et formant des articles accolés bout à bout. Il n'y a point de cloisons, comme dans un mycélium vrai, chaque article touchant à une extrémité la cellule-mère dont il est né et à l'autre la cellule-fille qu'il a bourgeonnée.

Pour que tout cela ait une valeur systématique, il faut que les aspects, résultant des diverses combinaisons de blastospores, soient

(1) *Archiv. f. Protistenkunde*, XXIII, 1911, p. 269-310,

assez constants pour que les divers types d'arbuscules puissent servir à caractériser et à reconnaître, soit des genres, soit des espèces.

C'est ce que Langeron et Talice s'étaient efforcés de faire avec les méthodes imparfaites dont ils disposaient. Ils étaient ainsi arrivés à distinguer six types d'arbuscules ou combinaisons de blastospores dont ils avaient fait six genres différents : *Mycotorula*, *Mycotoruloides*, *Candida*, *Mycocandida*, *Blastodendrion*, *Geotrichoides*. Malheureusement, l'étude de ces types, par la méthode des cultures sur lames gélosées, n'a pas pu confirmer, au point de vue systématique, les conclusions de ces auteurs. Ces types morphologiques existent bien, mais ils n'ont pas de valeur systématique, ils ne sont pas caractéristiques de genres ou d'espèces.

La conséquence de ces faits est que la morphologie des *Candida* est essentiellement polymorphe. Pour caractériser morphologiquement une espèce, il est donc nécessaire de connaître ses limites de variation ainsi que les divers aspects qu'elle peut présenter. La méthode des cultures sur lames nous donne la possibilité de saisir ce polymorphisme et d'établir la formule qui convient à chaque espèce. Malheureusement, cette formule, nous l'avons reconnu, est insuffisante pour définir des genres, car les divers types morphologiques peuvent coexister chez une même espèce. C'est pourquoi, actuellement, nous réunissons dans un seul genre les espèces de *Mycotoruloïdées* dont nous avons fait l'étude.

Valeur de la morphologie cellulaire. — *a) Structure interne des éléments levuriformes.* — Cette structure n'est jusqu'ici d'aucun secours pour la systématique. La présence de vacuoles, d'inclusions de lipides ou de glycogène, n'a rien de caractéristique, d'autant plus que ces inclusions sont très variables suivant l'âge des cellules, la nature du milieu de culture, la température, etc.

b) Forme des cellules. — Bien qu'elle soit aussi très variable, elle peut fournir, dans certains cas, des caractères spécifiques, surtout pour les *Mycotoruloïdées*, comme nous l'avons indiqué au début de ce chapitre. Pour les *Torulopsoidées*, la forme extérieure de la cellule sert au contraire à définir certains genres (*Kloeckera*, *Trigonopsis*, *Pityrosporum*). Toutefois, il faut noter que, pour *Candida suaveolens*, la forme en citron est assez caractéristique.

c) Dimensions des cellules. — Bien qu'elles soient très variables, elles peuvent entrer en ligne de compte lorsqu'une ou plusieurs espèces présentent à ce point de vue des différences très sensibles et constantes. C'est le cas, par exemple, de *C. guilliermondi*, *C. kru-sei*, *C. pseudotropicalis*, etc.

d) *Capsules*. — Ce caractère ne peut être d'aucune utilité pour la systématique des *Mycotoruloïdées*. Malgré tout ce qui a été écrit à ce sujet (Negroni 1936), la capsule est généralement très peu développée et souvent invisible dans ce groupe de levures. Il n'en est pas de même pour les *Torulopsoidées*, chez lesquelles la capsule peut être extrêmement épaisse, notamment chez les *Torulopsis*. Mais, même dans ce cas, la capsule n'est pas constante et son épaisseur est très variable.

e) *Mode de bourgeonnement*. — Ce caractère est intéressant à noter, car c'est lui qui conditionne la morphologie microscopique des colonies. Le bourgeonnement peut être unipolaire, bipolaire, en couronne, etc.

f) *Morphologie microscopique des colonies*. — Ce caractère présente un grand intérêt car, malgré sa variabilité, chaque espèce revêt, dans des conditions données, une physionomie particulière qui permet de la reconnaître. Les anciens genres de Langeron et Talice, passés au rang d'unités morphologiques, sont excellents pour définir ces aspects, bien étudiés par leurs auteurs.

C'est ainsi que *Candida albicans* prend généralement la forme *Mycotorula* ou *Mycotoruloides*, avec verticilles de blastospores plus ou moins compliqués et régulièrement espacés. Cette espèce est, en outre, caractérisée par ses chlamydo-spores.

C. tropicalis est dimorphe : dans la partie crémeuse on trouve l'appareil verticillé du type *Mycotoruloides* ; dans la partie membraneuse, des *chaînettes*, simples ou ramifiées, issues de pseudo-conidies (type *Candida*).

C. intermedia, qui filamente difficilement, prend l'aspect *Mycocandida* avec verticilles très réduits et très espacés. La morphologie microscopique de cette espèce est très pauvre.

C. pelliculosa filamente encore plus difficilement que *C. intermedia* et donne aussi une ramification du type *Mycocandida*.

C. krusei peut donner des aspects *Mycotorula* tout à fait typiques ; sa filamentation est des plus faciles et ses blastospores sont grandes et allongées.

C. parakrusei, bien que filamentant aussi très facilement, prend des aspects *Mycocandida* très typiques, en « rameau de sapin ».

C. pseudotropicalis possède des cellules allongées, filamente difficilement et peut présenter la coexistence des aspects *Mycotoruloides* et *Mycocandida*.

C. guilliermondi se reconnaît immédiatement à la petite taille de ses blastospores ; l'aspect des verticilles est du type *Mycotorula*, mais les glomérules sont très petits,

Ces quelques exemples montrent l'importance de la morphologie microscopique et des principaux aspects décrits par Langeron et Talice (1) :

Mycotorula et *Mycotoruloïdes* : verticilles régulièrement espacés, formant des glomérules plus ou moins compliqués.

Candida : chaînettes issues de pseudo-conidies et disposées ou non en verticilles irréguliers.

Mycocandida : ramifications en « rameau de sapin » avec verticilles très réduits et très espacés.

La description de ces aspects, jointe aux caractères biologiques, permet maintenant de caractériser correctement une espèce et de la retrouver.

VII. CARACTÈRES BIOLOGIQUES DES CHAMPIGNONS LEVURIFORMES

A. — FERMENTATIONS

La méthode des fermentations est employée depuis fort longtemps pour l'étude des levures ; comme elle est basée sur une des propriétés biologiques les plus importantes de ces champignons, elle est indispensable pour leur détermination. Il est admis maintenant que le pouvoir fermentatif des levures est suffisamment stable et constant pour qu'on puisse l'utiliser en systématique. Mais la valeur des indications fournies par la méthode des fermentations dépend de la rigueur et de la sensibilité des techniques employées pour les mettre en évidence.

Critique des procédés de fermentation

1. *Méthode des petites fermentations de Lindner* (1909). — Cette méthode, qui a joui d'une grande faveur, doit être abandonnée parce qu'elle est peu sensible, manque de rigueur et expose à des contaminations qui viennent fausser les résultats. Sous sa forme la plus récente, telle qu'elle est décrite par Guilliermond (1920 et 1928), elle consiste à remplir d'eau de levure (2) une cellule de

(1) *Blastodendron* ne correspond à rien de précis, ni morphologiquement, ni systématiquement ; cette dénomination doit donc disparaître de la nomenclature.

Geotrichoides sera conservé pour certains arthrospores que nous décrirons à la suite des mycotoruloïdes. Il ne peut s'appliquer à aucune des espèces de ce groupe que nous décrivons.

(2) L'eau de levure se prépare, d'après Stelling Dekker, en traitant pendant 10 minutes à l'autoclave à 120° un mélange de 200 gr. de levure de boulangerie avec un litre d'eau et un peu d'albumine d'œuf. Filtrer d'abord à chaud, puis une seconde fois après refroidissement. Répartir et stériliser de nouveau à 120°.

Van Tieghem, analogue à celles qu'on emploie pour les cultures en goutte pendante, à dissoudre dans l'eau de levure un peu du sucre à essayer et à ensemercer le liquide ainsi sucré avec la levure à étudier. On ferme ensuite la cellule avec une lamelle collée avec de la lanoline, en ayant soin de n'emprisonner aucune bulle d'air. Si la fermentation se produit, on voit apparaître sous la lamelle une bulle gazeuse plus ou moins volumineuse ; la lamelle peut même être soulevée par la pression du gaz carbonique si la fermentation est très intense. C'est en somme une méthode très grossière, tout au plus bonne pour démontrer à des élèves la réalité de la fermentation. Elle ne permet pas de doser la quantité de sucre employée ni de mesurer le volume gazeux dégagé. En outre elle est très difficile à effectuer proprement et aseptiquement.

Notre opinion est qu'il faut non seulement en rejeter définitivement l'emploi, mais encore mettre en doute tous les résultats obtenus antérieurement par ce procédé et qui continuent d'encombrer la littérature. La valeur des espèces précédemment décrites au moyen de cette technique est donc très suspecte et ces espèces doivent être étudiées de nouveau ou rayées de la nomenclature (1).

2. *Méthode de la cloche renversée dans un tube à essai.* — Cette technique, bien connue des bactériologistes, a été employée surtout par Castellani et ses élèves. Elle a donné et peut encore donner des résultats suffisamment précis (2). Son principal inconvénient est de ne pouvoir déceler avec une exactitude suffisante un très faible pouvoir fermentatif. En effet, s'il ne se produit que quelques petites bulles gazeuses, celles-ci ont des chances de ne pas être captées par la cloche et de passer ainsi inaperçues. En outre, la libre communication du liquide fermentescible avec l'air est loin de favoriser l'anaérobiose nécessaire à la fermentation.

3. *Autres procédés.* — Stelling-Dekker déconseille aussi l'emploi du tube coudé d'Einhorn (1885) (3) et se sert de préférence du saccharomètre (Gärungssaccharometer) de Van Eterson-Kluyver (4). Cet appareil ne nécessite qu'un centimètre cube de solution sucrée,

(1) On trouvera une critique détaillée de la méthode de Lindner dans la thèse de Mme Stelling-Dekker (1931, p. 13-14).

(2) Ainsi Talice et Mackinnon (1933) ont étudié, par cette méthode, la valeur des réactions de fermentation dans la classification des Mycotoruloidées.

(3) Ce modèle de tube coudé, fermé à une extrémité, était employé par Einhorn (*Virchow's Archiv.*, 102, 1885, p. 263) pour le dosage du sucre dans l'urine. Il a été introduit par Th. Smith (*Centrbl. f. Bakt.*, 7, 1890, p. 502) dans la technique bactériologique, pour l'étude des fermentations.

(4) Voir au sujet de cet appareil : A. J. Kluyver, *Biochemische Suikerbepalingen*, Delft, 1914, p. 59, et A. W. Van der Haar, *Anleitung zum Nachweis der Monosaccharide und Aldehydsäuren*, Berlin, 1920,

dans laquelle on met en suspension la totalité d'une jeune culture en tube sur gélose inclinée. Dans ces conditions, on évite la dissolution dans le liquide de la petite quantité de gaz carbonique produite par les levures à faible pouvoir fermentatif. Cette dernière objection a d'ailleurs, à notre avis, une valeur plutôt théorique que pratique, car, avec notre méthode, nous arrivons à obtenir dans nos tubes, un volume gazeux appréciable, même avec des levures à pouvoir fermentatif très faible.

Méthode adoptée

Nous donnons la préférence à la technique imaginée par l'un de nous (Guerra) et décrite par lui dans sa thèse de doctorat en médecine (1935). Nous la désignerons donc sous le nom de *méthode de Guerra* et nous la décrivons ici de nouveau car elle présente, à notre avis, de grands avantages, notamment celui de favoriser l'anaérobiose.

1. *Eau peptonée*. — Le milieu de culture est, comme toujours, de l'eau peptonée à 1 p. 100, préparée en dissolvant 10 gr. de peptone Chapoteaut dans un litre d'eau distillée.

On peut en outre ajuster à pH 7,6 et ajouter un indicateur pour apprécier l'acidification. Actuellement nous y avons renoncé à cause de l'imprécision des données ainsi obtenues. Nous nous contentons de noter l'absence ou la présence de gaz et le volume relatif que ce dernier occupe dans le tube.

Répartir cette eau peptonée par 200 cm³ dans des ballons de 250 gr. et stériliser.

2. *Sucres fermentescibles*. — Il est nécessaire de n'employer, pour les épreuves de fermentation, que des sucres fermentescibles. Cette notion de simple bon sens est trop souvent méconnue, c'est pourquoi nous croyons nécessaire de la rappeler.

Les sucres utilisables pour l'étude des levures sont des *oses* du groupe des hexoses et des *holosides* (diholosides et un triholoside, le raffinose) ; les polyholosides à grosse molécule (amidons, dextrines, celluloses, glycogène, inuline) sont très difficiles à obtenir purs et ne donnent, en général, aucune réaction. Les sucres doivent être employés aussi purs que possible et cristallisés. Nous donnons plus loin la liste de ceux qui, à notre avis, suffisent pour caractériser une levure.

On en prépare des *solutions concentrées*, à 20 p. 100 d'eau distillée, qu'on introduit dans des ampoules préalablement stérilisées

à sec au Poupinel. Ces ampoules sont tyndallisées ensuite au bain-marie, par trois chauffages successifs pendant 20 minutes à la température de l'ébullition.

3. *Préparation du milieu liquide sucré, fermentescible.* — Verser aseptiquement le contenu des ampoules dans les ballons renfermant l'eau peptonée stérilisée, de manière à obtenir des solutions sucrées à 1 ou à 2 p. 100. Nous conseillons la concentration à 2 p. 100 qui donne des résultats beaucoup plus nets. Il faut donc 4 gr. de sucre pour un ballon de 200 gr., soit 20 cm³ de solution à 20 p. 100 en une ampoule, ou en deux ampoules de 10 cm³.

4. *Remplissage des tubes.* — Les tubes à essai ordinaires de 18 cm. sur 18 mm. sont trop volumineux et trop larges pour les épreuves de fermentation. Nous préférons des tubes plus courts et plus étroits (12 mm. sur 12 cm.), *de préférence en verre neutre.*

Ces tubes sont préalablement bouchés au coton et stérilisés à sec au Poupinel. On les garnit ensuite de milieu liquide sucré sur une hauteur de 4 à 5 cm. en puisant dans les ballons au moyen de pipettes à boule.

5. *Préparation du tampon de paraffine.* — La principale originalité de la méthode de Guerra consiste à couler, à la surface du milieu liquide, un bouchon ou tampon de paraffine tendre qui, en se solidifiant, forme fermeture hermétique. Lors de la fermentation, le gaz carbonique produit s'accumule sous ce tampon, qu'il peut refouler comme un piston, sans qu'il y ait la moindre déperdition de gaz. Cet ingénieux artifice permet de retenir les plus fines bulles gazeuses et de déceler de très faibles fermentations qui échapperaient complètement à l'observation dans les anciens tubes à cloche.

On prépare donc le mélange suivant, *en poids* :

Huile de paraffine	1 partie
Paraffine à inclusions, fusible à 55°	5 parties

qu'on stérilise à l'autoclave.

Au moment de l'emploi, liquéfier ce mélange au bain-marie, puiser avec une pipette coudée à angle droit et munie d'un tube en caoutchouc pour aspirer et déposer, à la surface du milieu de culture, une quantité suffisante pour former un bouchon ou tampon d'environ 4 mm. d'épaisseur.

6. *Expulsion de l'air.* — Les tubes ainsi bouchés à la paraffine sont mis au bain-marie à l'ébullition pendant quelques minutes

pour chasser l'air dissous qui formerait des bulles sous le tampon de paraffine. Par le refroidissement, la paraffine se solidifie et bouche hermétiquement les tubes qu'on conserve à la glacière jusqu'au moment de s'en servir. Il faut, bien entendu, à ce moment, rejeter les tubes dont le liquide s'est troublé, parce qu'ils sont infectés.

7. *Ensemencement des tubes.* — Un tour de main est nécessaire pour déplacer le bouchon de paraffine. On se sert d'un fort fil de nichrome, coudé à angle droit à son extrémité. On passe très rapidement le tube à la flamme au niveau du bouchon de paraffine qu'on fait basculer d'un coup sec donné avec le coude du fil. Avec ce coude, on attire rapidement vers le haut le bouchon de paraffine qui reste ensuite adhérent au verre par la solidification de la paraffine.

Ensemencer avec une anse d'une culture jeune, datant au plus de quelques jours, et absolument pure. Rétablir le tampon de paraffine en le faisant fondre à la flamme de la veilleuse, attendre qu'il se solidifie, puis porter les tubes ensemencés à l'étude à 25° ou à 37°.

8. *Lecture du résultat.* — La lecture se fait au bout de 3 ou 4 jours. Il est cependant nécessaire, dans certains cas, de garder les tubes pendant au moins 20 jours à l'étuve, car il se produit parfois des fermentations tardives, soit pour un sucre (saccharose pour *Candida lodderi*), soit pour tous les sucres (*C. guilliermondii*).

Les principaux avantages de cette méthode sont sa sensibilité et la possibilité d'évaluer approximativement le volume de gaz dégagé.

Critique de la valeur des fermentations en systématique

La valeur des fermentations comme méthode de détermination des levures a été aussi décriée par les uns qu'exagérée par les autres. En réalité, en systématique, on ne peut se contenter d'un caractère unique pour déterminer des espèces, car ce caractère peut être voilé, ou même faire défaut dans certains cas. Cette réserve faite, la méthode des fermentations reste indispensable pour déterminer des champignons à morphologie à la fois rudimentaire et variable, comme les levures, mais heureusement pourvus, en échange, d'un pouvoir fermentatif quelquefois très actif.

Système de Castellani. — Castellani, dans son système des levures, qui a fait longtemps autorité, a utilisé uniquement les pro-

priétés fermentatives et l'action sur le lait tournesolé pour caractériser les espèces. Il a laissé délibérément de côté la morphologie macroscopique et microscopique, l'étude du voile et d'autres caractères importants.

En se basant seulement sur de très faibles différences de fermentation, il est arrivé à multiplier exagérément le nombre des espèces. Aussi, à côté des types bien définis, qu'il a eu le très grand mérite d'isoler et de décrire le premier, en trouve-t-on un certain nombre d'autres que des recherches ultérieures ont fait ou feront tomber en synonymie.

Castellani a eu aussi le tort de ne pas se limiter à l'emploi de sucres purs, cristallisés, dont la composition est parfaitement définie et qui peuvent servir de véritables réactifs. Il a cru devoir aussi étudier l'action des levures sur des polysaccharides à énormes molécules très complexes, colloïdaux, non cristallisables et dont la composition n'est pas constante (amidons, dextrines). Les divers échantillons de ces corps ne peuvent donner des réponses identiques, valables pour la distinction des espèces.

L'*amidon*, polymère du maltose, est transformé par l'*amylase* en petites molécules de maltose qui peuvent, à leur tour, être dédoublées par la maltase en deux molécules de glycose. Mais cette dislocation de l'amidon a lieu par étapes, dont les premières sont les *dextrines*, qui sont aussi des polymères du maltose. La complexité de ces transformations fait, qu'à notre avis, amidon et dextrine sont de très mauvais réactifs de fermentation : ils font finalement double emploi avec le maltose, puisque le dégagement gazeux ne peut se manifester qu'après dédoublement de ce dernier par la maltase et attaque du glycose, terme final, par la zymase.

L'*inuline* ne vaut pas mieux, car cette substance, qui est un polymère du fructose, s'hydrolyse avec la plus grande facilité, même sans l'intervention d'une hydrolase (*inulase*). Son emploi se ramène donc à celui du fructose, dont les propriétés fermentescibles sont identiques à celles du glycose.

Quant aux *polyols* (*mannitol*, *dulcitol*, *isodulcitol*, *adonitol*, *sorbitol*, *inositol*, *érythrite*, *glycérol*), ce sont des corps contenant, dans leur molécule, plusieurs fonctions alcool. La glycérine est un triol, l'érythrite un tétrol, les autres des pentols et hexols ; ces deux derniers groupes, malgré leur saveur sucrée, ne sont pas des oses et ne peuvent donc fermenter.

Toutes ces substances non fermentescibles, utilisées encore par certains auteurs dans les épreuves de fermentation, servent simplement à allonger et à compliquer les tableaux, et à frapper les ignorants, en accumulant les résultats négatifs.

Sucres fermentescibles. — Les sucres directement fermentescibles sont exclusivement les *sucres simples* ou *oses* (anciens *monosaccharides*) dont le nombre d'atomes de carbone est égal à 3 ou à un multiple de 3, comme l'ont montré Fischer et Thierfelder (1894) : pratiquement, ce sont donc des *hexoses* (glycose, galactose, mannose, fructose). Les pentoses (arabinose, xylose, rhamnose, etc.) ne sont pas fermentescibles par les levures ; ils sont donc inutilisables en zymologie. La fermentation directe des hexoses est toujours produite par le complexe *zymase*, qui existe dans toutes les levures douées de pouvoir fermentatif.

Les *holosides* (anciens *polysaccharides*) ne peuvent pas fermenter directement : il faut qu'ils soient préalablement hydrolysés, de manière à mettre en liberté les molécules d'oses directement fermentescibles dont ils sont composés. Cette hydrolyse, dans la fermentation produite par les levures, a lieu sous l'action des *osidases* d'Oppenheimer, c'est-à-dire de diastases hydrolysantes ou *hydrolases*, spécifiques pour chaque oside. Les holosides employés en zymologie sont surtout des holosides à molécule double ou *diholosides* (saccharose, maltose, lactose) ; nous y joignons un triholoside, le raffinose, dont la fermentation présente des caractères particuliers, étudiés par Scheibler et Mittelmeier (1889) et par Bierry (1912), et mentionnés par Stelling-Dekker. En effet, certaines levures peuvent le faire fermenter entièrement ; d'autres ne le font fermenter que pour un tiers, parce qu'elles l'hydrolysent en fructose et en un diholoside, le *mélbiose*, sans pouvoir attaquer ce dernier, hydrolysable seulement par la *mélibiase* en glycose et galactose. Seules, les levures possédant la *mélibiase* pourront donc hydrolyser et faire fermenter totalement le raffinose.

Voici donc la liste des *sucres fermentescibles* employés pour étudier les propriétés fermentescibles des levures :

Hexoses : *glycose*, *fructose* (= *lévulose*), *mannose*, tous trois très fermentescibles,

galactose, peu fermentescible, mais caractéristique dans certains cas ; l'opération ne réussit bien, pour les levures capables de le faire fermenter, qu'en eau de levure et avec une culture jeune et vigoureuse (Stelling-Dekker).

Diholosides : *maltose*, *saccharose*, *lactose*.

Triholoside : *raffinose*.

Zymase et hydrolases. — La nécessité de l'action des hydrolases spécifiques, pour dépolymériser les holosides avant toute action fermentative, nous éclaire singulièrement sur l'interprétation à

donner du pouvoir fermentatif des levures. Ce qui est spécifique, ce n'est pas ce pouvoir, c'est la présence, dans une levure, de l'hydrolase nécessaire pour hydrolyser tel holoside. C'est pourquoi, comme l'a très bien fait ressortir Stelling-Dekker, les sucres qui donnent les meilleurs caractères de différenciation pour les levures sont les holosides. En effet, la fermentation des hexoses indique simplement que la levure possède le complexe zymase, impuissant à lui seul à faire fermenter les holosides: D'autre part, le phénomène fermentatif, tel qu'il se manifeste à nos yeux par le dégagement de gaz carbonique, n'a rien de caractéristique au point de vue systématique, puisqu'il est toujours produit, même pour les holosides, par l'action de la zymase sur un ou plusieurs hexoses, terme ultime de l'action des hydrolases spécifiques.

Nous croyons donc qu'il est inexact de baser le groupement des levures sur la seule présence du phénomène fermentatif, révélé par le dégagement plus ou moins intense de gaz carbonique. Dire que telle levure fait fermenter le maltose ou le lactose n'est pas vrai. Ce qui est vrai, c'est que cette levure possède la maltase ou la lactase nécessaire pour dépolymériser l'holoside en question et libérer les molécules d'hexoses. C'est alors seulement que le complexe zymase, non spécifique, commun à toutes les levures douées de pouvoir fermentatif, pourra déclancher le dégagement de gaz carbonique aux dépens de ces molécules d'hexoses.

Nous séparons donc, au point de vue fermentatif, les levures en deux grands groupes : les unes, *zymatiques*, possédant la zymase, donc douées de pouvoir fermentatif, les autres, *azymatiques*, dépourvues de ce pouvoir pour tous les sucres (oses et holosides). Les levures zymatiques sont alors classées en groupes, suivant la présence ou l'absence d'hydrolases spécifiques et suivant la nature de ces hydrolases. Pratiquement, trois hydrolases nous servent à établir nos groupements : *maltase*, qui dédouble le maltose en deux molécules de glycose ; *saccharase*, qui dédouble le saccharose en glycose et fructose ; *lactase*, qui dédouble le lactose en glycose et galactose. Ces trois hydrolases suffisent, car toutes les fermentations des levures se ramènent à celles du glycose, du fructose et du galactose.

Les levures qui ne possèdent pas d'hydrolases, et que nous nommons *levures zymatiques simples*, ne font fermenter que le glycose, le fructose et le mannose, puisqu'elles ne possèdent que le complexe zymase.

Voici donc le *groupement diastasique* que nous proposons pour les levures étudiées dans ce mémoire :

A. *Levures azymatiques*. — Dépourvues du complexe zymase, fermentation nulle pour tous les sucres.

B. *Levures zymatiques*. — Possèdent le complexe zymase, font fermenter les hexoses.

1. *Levures zymatiques simples*. — Ne possèdent que le complexe zymase, ne font fermenter que les hexoses.

Groupes *brumpti* et *krusei*.

2. *Levures zymato-osidasiques*. — Possèdent le complexe zymase et des hydrolases osidasiques.

a) *Levures maltasiques*. — Dédoublent le maltose.

Groupe *albicans*.

b) *Levures saccharasiques*. — Dédoublent le saccharose.

Candida guilliermondii.

C. lodderi.

c) *Levures malto-saccharasiques*. — Dédoublent le maltose et le saccharose.

Groupe *tropicalis*.

d) *Levures saccharo-lactasiques*. — Dédoublent le saccharose et le lactose.

Groupe *pseudotropicalis*.

Les trois lois de la fermentation par les levures, ou lois de **Kluyver-Dekker**. — Il est inutile d'employer le *fructose* et le *mannose*, car l'Ecole de Delft a démontré que toute levure faisant fermenter le glycose fait fermenter aussi ces deux sucres ; nous avons vérifié cette loi au cours des milliers de fermentations que nous avons pratiquées.

Par contre, l'essai du *glycose* est nécessaire, car la seconde loi veut qu'une levure ne fasse jamais fermenter aucun sucre si elle n'est pas capable de faire fermenter le glycose. L'épreuve du glycose est donc absolument indispensable pour savoir si une levure est douée ou non du pouvoir fermentatif.

Cette loi ne consacre pas seulement des faits expérimentaux, c'est aussi une nécessité logique, car une levure inactive pour le glycose ne produit certainement pas de zymase, par conséquent, ne peut agir sur aucun sucre.

Enfin, la troisième loi, très importante, est qu'en aucun cas une levure ne peut faire fermenter à la fois le maltose et le lactose.

Cette dernière règle, que nous avons aussi vérifiée, est d'une grande utilité pour juger de la valeur des travaux consacrés à l'étude des levures. Par exemple, dans le mémoire de Gomez y Cisneros, que nous avons cité plus haut, nous avons trouvé, sur 12 espèces étudiées, trois levures qui possèdent la singulière propriété de faire fermenter à la fois le maltose et le lactose. Il faut en conclure

que l'auteur a employé une technique défectueuse et qu'on ne peut tenir compte de ses résultats ni pour les levures en question, ni pour les autres. Il en est de même pour beaucoup d'autres levures, données par divers auteurs comme faisant fermenter, par exemple, le lévulose et non le glycose, etc...

Les trois lois de la fermentation des sucres par les levures, formulées dès 1914 par Kluyver, confirmées et étendues par Stelling-Dekker en 1931, peuvent donc être énoncées brièvement comme il suit :

1. *Toute levure qui ne fait pas fermenter le glycose ne fait fermenter aucun sucre.*
2. *Toute levure qui fait fermenter le glycose fait fermenter aussi le fructose et le mannose.*
3. *Aucune levure ne peut faire fermenter à la fois le maltose et le lactose.*

Constance du pouvoir fermentatif des levures. — Certains auteurs ont nié l'importance de l'étude des fermentations en prétendant qu'elles étaient variables et inconstantes. Cette opinion est tout à fait inexacte et ne peut s'expliquer que par une mauvaise méthode de travail.

Il est possible que le pouvoir fermentatif de certaines souches puisse diminuer avec l'âge. Mais le fait est très rare et, si on emploie un procédé sensible, on arrive toujours à faire reparaitre la production de gaz. En tous cas, depuis 5 ans, nous vérifions régulièrement le pouvoir fermentatif de toutes nos souches, dont quelques-unes sont conservées depuis 20 ans dans la mycothèque de l'Institut de parasitologie. Or, nous n'avons jamais noté ni changement de propriétés, ni perte du pouvoir fermentatif, à condition, bien entendu, de n'employer que des sucres parfaitement purs et cristallisés.

Valeur de l'acidification. — Nous tenons à mettre en garde contre la prise en considération de l'acidification des milieux de culture pour la création d'espèces ou de variétés. Cette acidification est simplement une preuve du développement de la levure ; la réaction est d'ailleurs peu sensible et trompeuse. Elle doit être remplacée par l'étude de l'élection des sucres.

B. — EMPLOI DE LAIT TOURNESOLÉ

La coagulation et le virage au rose du lait tournesolé ont une grande importance dans le tableau classique de Castellani. C'est ainsi, par exemple, que cet auteur distingue les *Monilia krusei* et

parakrusei. Malheureusement, d'après nos expériences, ces deux espèces, quoique réellement différentes, ne coagulent pas le lait tournesolé et ne le font pas virer au rose.

Parmi les très nombreuses souches de champignons levuriformes que nous avons étudiées, une seule, *Candida deformans* (= *Pseudomonilia deformans*), coagule le lait nettement et rapidement. Les coagulations du lait signalées par les auteurs sont dues, à notre avis, à des impuretés des souches ou à des infections latentes, parfois difficiles à déceler au microscope à cause de la rareté des éléments étrangers, mais que des passages répétés en Raulin acide font disparaître. A partir de ce moment, la levure est purifiée et ne coagule plus le lait (1).

Le *virage au rose* n'a aucune valeur, car on ne l'observe que pour les espèces qui font fermenter le lactose ; il fait donc double emploi avec ce caractère de fermentation.

L'avantage le plus certain du lait est d'être le milieu de choix pour obtenir la morphologie typique du *Candida tropicalis*.

C. — LIQUÉFACTION DE LA GÉLATINE

Ce phénomène, excellent pour la distinction des bactéries, n'est à peu près d'aucune utilité pour la détermination des levures. En effet, presque toutes arrivent à liquéfier la gélatine au bout d'un délai plus ou moins long. Ceci s'explique d'ailleurs très bien à la lumière des recherches de Janke et Holzer (1929-1930) : ces auteurs ont en effet démontré que, pour certains microorganismes, la protéolyse ne se manifeste que chez des cellules mortes ou en état de moindre résistance (Stelling-Dekker, 1931, p. 19). D'après nos recherches, seul *Candida deformans* provoque une liquéfaction rapide en 4-5 jours. Les renseignements fournis par l'épreuve de la liquéfaction n'ont donc de valeur pratique que lorsque la réaction est rapide et produite par une souche absolument pure. Il ne faut pas oublier non plus, comme l'a bien remarqué Mme Stelling-Dekker, que la rapidité de la lyse dépend aussi de la concentration de la gélatine et du mode de stérilisation qu'elle a subi, un chauffage trop prolongé et à trop haute température pouvant produire une lyse plus ou moins totale.

(A suivre).

(1) Ainsi, le résultat de nos expériences est partiellement en désaccord avec celui de Worley et Stovall (1936). Ces auteurs ont bien vu, sans l'expliquer, la pseudo-coagulation produite par *C. tropicalis* (= *candida*). En réalité, il n'y a pas de pseudo-coagulation, mais un anneau épais, produit par l'abondante végétation de cette espèce dans le milieu de choix que le lait est pour elle. Par contre, nous n'avons jamais observé de coagulation avec des souches pures de *C. albicans*.

REPertoire

DES ESPÈCES ET DES GENRES NOUVEAUX

Hyphomycètes

Torula poikilospora Yoshisada Takahashi. *Arthrosporaceæ*. Peau. Homme. Japon. *Japan Jl. of dermat. and urol.*, XLI, 1937, n° 1.

Hormodendron japonicum Yoshisada Takahashi. *Arthrosporaceæ*. Peau. Homme. Japon. *Japan Jl. of dermat. and urol.*, XLI, 1937, n° 2.

Fonsecaea Negroni. *Dematiaceæ*. Espèce type : *F. pedrosoi* (Brumpt 1921) [= *Hormodendron pedrosoi* Brumpt 1921 = *Trichosporium pedrosoi* (Brumpt 1921) Langeron 1929]. *Rev. Inst. Bact.*, Buenos Aires, VII, 1936, p. 419.

M. LANGERON.

Incertæ sedis

Erythrocytozoon Lestoquard et Donatien. Espèce type : *E. bovis* Lestoquard et Donatien. *Bull. Soc. pathol. exot.*, XXX, 1937, p. 457.

Erythrocytozoon bovis Lestoquard et Donatien. Sang. Bœuf. Algérie. *Bull. Soc. pathol. exot.*, XXX, 1937, p. 457.

M. L.

Spirochète

Spirochaeta haemophilus Lesne, Troisier et Bénard. *Spirochætidæ*. Sang. Femme. Paris. *Bull. et Mem. Soc. Méd. Hôpit. Paris*, LIII, 1937, p. 368. *Ann. Inst. Pasteur*, LVIII, 1937, p. 233.

M. L.

Rhizopode

Endamœba insolita Geiman et Wichterman. *Amœbidæ*. Intestin « Galapagos tortoises » : *Testudo hoodensis*, *T. elephantina*, *T. vicina* (Rept.). Jardin zool. de Philadelphie. *Jl. of Paras.*, XXIII, 1937, p. 339.

M. L.

Sporozoaires

Eimeria mayeri Yakimoff et Matschoulsky. *Eimeridæ*. Intestin. *Rangifer tarandus* (Mamm.). Russie. *Berl. tierärztl. Woch.*, LII, 1936, p. 535.

Eimeria tarandina Yakimoff et Matschoulsky. *Eimeridæ*. Intestin. *Rangifer tarandus* (Mamm.). Russie. *Berl. tierärztl. Woch.*, LII, 1936, p. 535.

Eimeria mühlensi Yakimoff, Sokoloff et Matschoulsky. *Eimeridæ*. Intestin. *Rangifer tarandus* (Mamm.). Russie. *Berl. tierärztl. Woch.*, LII, 1936, p. 535.

Adelina cryptocerci E. A. Yarwood. *Adeleidæ*. Intestin. *Cryptocercus punctulatus* (Orthopt.). Dans des trous d'*Abies douglasi* pourris, bords de la rivière Smith, Californie, au nord de Crescent City. *Parasitology*, XXIX, 1937, p. 370.

Eimeria capibarae Carini. *Eimeridæ*. Intestin. *Hydrochærus capibara* (Mamm.). Candido Motta, Etat de St Paul, Brésil. *Ann. de paras.*, XV, 1937, p. 368.

Eimeria hydrochæri Carini. *Eimeridæ*. Intestin. *Hydrochærus capibara* (Mamm.). Candido Motta, Etat de St Paul, Brésil. *Ann. de paras.*, XV, 1937, p. 368.

Eimeria amydae Roudabush. *Eimeridæ*. Intestin. *Amyda spinifera* (Rept.). Ames, Iowa, U. S. A. *Jl. of Paras.*, XXIII, 1937, p. 357.

Eimeria dericksoni Roudabush. *Eimeridæ*. Intestin. *Amyda spinifera* (Rept.). Ames, Iowa, U. S. A. *Jl. of Paras.*, XXIII, 1937, p. 358.

Isospora perroncitoi Carpano. *Eimeridæ*. Intestin. *Pyrrhula europaea* (bouvreuil) (Ois.). Importé en Egypte. *Riv. di parasitol.*, I, 1937, p. 359.

M. L.

Eimeria parvula A. Kotlán. *Eimeriidæ* (= *E. anseris* A. Kotlán 1932 *pro parte*). Intestin grêle postérieur. Oie domestique (Ois.). Hongrie. *Ztrbl. f. Bakt.*, I Abt., *Origin.*, CXXIX, 1933, p. 12.

Eimeria nocens A. Kotlán. *Eimeriidæ*. Intestin grêle postérieur. Oie domestique (Ois.). Hongrie. *Ztrbl. f. Bakt.*, I Abt., *Origin.*, CXXIX, 1933, p. 5.

Nosema pyraustae A. Kotlán. Microsporidie. Muscles et autres organes. Larves de *Pyrausta nubilalis* Hb. (Lépidopt.). Hongrie. *International corn borer investigations, Scientific Reports*, Chicago, 1928, p. 178.

R.-Ph. DOLLFUS.

Flagellés

Crithidia gallardoi Mazza. *Trypanosomidæ*. Intestin. *Microtomus lunifer* (Berg.) (Hémipt.). Mision San Patrico, Chaco de Salta, Rep. Argentine. *Invest. Sobre enferm. de Chagas*, publ. n° 32, Buenos Aires, 1937, p. 37.

Leishmania chagasi da Cunha et F. Chagas. *Trypanosomidæ*. Foie et rate. Homme. Sergipe, Brésil. *O Hospital*, XI, 1937, n° 2.

Trypanosoma chrysemydis Roudabush et Coatney. *Trypanosomidæ*. Sang. *Chrysemys bellii marginata* (Agassiz) et *Chelydra serpentina* (L.) (Rept.). Ames, Iowa, U. S. A. *Trans. Amer. microscop. Soc.*, LVI, 1937, p. 296.

Trypanosoma cryptobranchi Roudabush et Coatney. *Trypanosomidæ*. Sang. *Cryptobranchus alleganiensis* Daudin (Batr.). Iowa, U. S. A. *Trans. Amer. microscop. Soc.*, LVI, 1937, p. 297.

M. LANGERON.

Sporodinium pseudocalani R. Gönner. Pèridinien (Dinoflagellate). Œufs. *Pseudocalanus elongatus* (Crust.). Helgoland. *Ztschr. f. Parasitenkunde*, IX, 1936, p. 140.

R.-Ph. DOLLFUS.

Infusoires

Cyathodinoides Cunha et Freitas. *Cyathodinoidæ*. Espèce type : *C. pyriformis* (Cunha 1913) (= *Cyathodinium pyriformis* Cunha 1913). *C. R. Soc. biol.*, CXXIII, 1936, p. 713.

Nyctotherus kyphodes Geiman et Wichterman. *Bursaridæ*. Intestin. *Testudo hoodensis* (Rept.). Iles Galapagos, morte au jardin zoologique de Philadelphie. *Jl. of Paras.*, XXIII, 1937, p. 333.

Nyctotherus teleacus Geiman et Wichterman. *Bursaridæ*. Intestin. « Galapagos tortoises ». *Testudo hoodensis*, *T. elephantina*, *T. vicina* (Rept.). Jardin zoologique de Philadelphie. *Jl. of Paras.*, XXIII, 1937, p. 335.

Zelleriella artigasi O. Unti. *Opalinidæ*. Intestin. *Bufo marinus* (Batr.). Curityba, Etat de Parana, Brésil. *Rev. de biol. e hyg.*, VI, 1935, p. 39.

M. LANGERON.

Linguatulides

Railietiella agoi Tubangui et Masilugan. *Pentastomidæ*. Poumon. Cobra (*Naja naja philippinensis*) (Rept.). Cabanatuan, Nueva Ecija, Luzon, Philippines. *Philippine Jl. of sc.*, LX, 1936, p. 400.

Pentastomum solaris Tubangui et Masilungan. *Pentastomidæ*. Poumon. *Crocodilus parosus* (Rept.). Palawan, Philippines. *Philippine Jl. of sc.*, LX, 1936, p. 401.

M. L.

Acariens

Allothrombium pumilio M. André. *Trombididæ*. Mont Elgon, Omo, Afrique. *Bull. Soc. Zool. France*, LXI, 1936, p. 422.

Allothrombium brachytrichotum M. André. *Trombididæ*. Massif du Marakwet, Omo, Afrique. *Bull. Soc. Zool. France*, LXI, 1936, p. 424.

Allothrombium arambourgi M. André. *Trombididæ*, Mont Elgon, Omo, Afrique. *Bull. Soc. Zool. France*, LXI, 1936, p. 425.

Allothrombium vicinum M. André. *Trombididæ*. Mont Elgon, Omo, Afrique. *Bull. Soc. Zool. France*, LXI, 1936, p. 426.

Allothrombium innocens Berlese. *Trombididæ*. Kenya, Afrique orientale. *Bull. Soc. Zool. France*, LXI, 1936, p. 429.

Allothrombium geminatum M. André. *Trombididæ*. Plaine de l'Omo, Afrique. *Bull. Soc. Zool. France*, LXI, 1936, p. 430.

Allothrombium barbuligerum M. André. *Trombididæ*. Mont Elgon, Omo, Afrique. *Bull. Soc. Zool. France*, LXI, 1936, p. 432.

Amblyomma darwini wollebachi P. Schulze. *Ixodidæ* Sur *Amblyrhynchus* (Rept.). Santa Cruz, Iles Galapagos. *Meddelelser fra det Zool. Mus., Oslo*, n° 45, 1936, p. 157.

Hyalomma (Hyalomma) lewisi P. Schulze. *Ixodidae*. Bétail. Tanganyika. Zool. Anz., CXVI, 1936, p. 258.

Ixodes taiwanensis Sugimoto. *Ixodidae*. Chien. Formose. Bull. res. inst. Formosa, n° 124, 1936.

Ixodes vulpinus P. Schulze. *Ixodidae*. Renard. Frauenfeld (Suisse). Ztschr. f. Parasitenkunde, IX, 1937, p. 359.

Ixodes barbarossae P. Schulze. *Ixodidae*. Chauves-souris. Kyffhäuserhöhle, Braunschweig (Allemagne). Ztschr. f. Parasitenkunde, IX, 1937, p. 363.

Dermanyssus brasiliensis F. da Fonseca. *Dermanyssidae*. *Holochilus sciureus* Wagner (Mamm.). Crato, Etat de Ceara, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 52.

Ornithodoros wheeleri B. C. Mc Ivor. *Ixodidae*. Los Baños, Merced County, Californie. Jl. of paras., XXIII, 1937, p. 365.

Laelaps paulistanensis F. da Fonseca. *Laelaptidae*. « Rato sylvestre ». Etat de St-Paul, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 33.

Laelaps manguinhoi F. da Fonseca. *Laelaptidae*. *Holochilus vulpinus* Brants (Mamm.). Port Joffre, Matto Grosso, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 34.

Laelaps differens F. da Fonseca. *Laelaptidae*. Sur un rat non déterminé. Etat de St-Paul, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 35.

Laelaps exceptionalis F. da Fonseca. *Laelaptidae*. Sur un rat non déterminé. Etat de St-Paul, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 36.

Laelaps lativentralis F. da Fonseca. *Laelaptidae*. Sur chat nommé « punaré ». Joazeiro, Etat de Parahyba, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 36.

Liponyssus haematophagus F. da Fonseca. *Liponyssidae*. Sur des chauves-souris. Sito do Matto, Etat de Rio de Janeiro, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 44.

Mysolaelaps F. da Fonseca. *Laelaptidae*. Espèce type : *M. parvispinosus* F. da Fonseca. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 17.

Mysolaelaps parvispinosus F. da Fonseca. *Laelaptidae*. « Rato sylvestre ». Etat de St-Paul, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 17.

Mysolaelaps microspinosus F. da Fonseca. *Laelaptidae*. Sur un rat non déterminé. Etat de St-Paul, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 18.

Ischnolaelaps F. da Fonseca. *Laelaptidae*. Espèce type : *I. reticulatus* F. da Fonseca. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 19.

Ischnolaelaps reticulatus F. da Fonseca. *Laelaptidae*. *Euryzgomastomys spinosus catellus* (Mamm.). Etat de St.-Paul, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 19.

Ischnolaelaps caelogenys F. da Fonseca. *Laelaptidae*. *Caelogenys pacca* (Mamm.). Estrella, Etat de Rio de Janeiro, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 31.

Ischnolaelaps sciureus F. da Fonseca. *Laelaptidae*. *Sciurus aestuans* (Mamm.). Angra dos Reis, Etat de Rio de Janeiro, Brésil. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 32.

Paralaelaps F. da Fonseca. *Laelaptidae*. Espèce type : *P. bispinosus* F. da Fonseca. Mem. Inst. Butantan, X, 1935-1936, p. 29.

Paralaelaps bispinosus F. da Fonseca. *Laelaptidae*. *Cavia rufescens* Lund

(Mamm.). Butantan, Etat de St-Paul, Brésil. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 29.

Trombicula travassosi F. da Fonseca. *Trombididæ*. *Spilotes pullatus* (Rept.). Angra dos Reis, Etat de Rio de Janeiro, Brésil. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 47.

Hannemania hepatica F. da Fonseca. *Trombididæ*. Foie. *Leptodactylus ocellatus* (Batr.). Butantan, Etat de St-Paul, Brésil. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 48.

Neoschöngastia brasiliensis F. da Fonseca. *Trombididæ*. Rat sylvestre non déterminé. Butantan, Etat de St-Paul, Brésil. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 50.

Eubrachylaelaps rotundus F. da Fonseca. *Laelaptidæ*. Petit rat sylvestre d'espèce indéterminée. Etat de St.-Paul, Brésil. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 20.

Macrolaelaps butantanensis F. da Fonseca. *Laelaptidæ*. Rat sylvestre d'espèce indéterminée. Etat de St.-Paul, *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 21.

Macrolaelaps mattogrossensis F. da Fonseca. *Laelaptidæ*. *Holochilus vulpinus* Brants (Mamm.). Port Joffre, Matto Grosso, Brésil. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 22.

Macrolaelaps brachyspinosus F. da Fonseca. *Laelaptidæ*. *Holochilus vulpinus* Brants (Mamm.). Port Joffre, Matto Grosso, Brésil. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 22.

Cavilaelaps F. da Fonseca. *Laelaptidæ*. Espèce type : *C. bresslaui* F. da Fonseca. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 25.

Cavilaelaps bresslaui F. da Fonseca. *Laelaptidæ*. *Caviella australis* (Mamm.). Jujuy, Rep. Argentine. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 25.

Dermacentor dispar R. A. Cooley. *Ixodidæ*. *Tayassu pecari ringens* (Merriam) (Mamm.). El Paso, Peten, Guatemala. *Journ. of paras.*, XXIII, 1937, p. 257.

Dermacentor latus R. A. Cooley. *Ixodidæ*. Tapir (Mamm.). Montagnes de la province de Guanacaste, Costa Rica. *Journ. of paras.*, XXIII, 1937, p. 262.

Trombicula vanommereni Schierbeek. *Trombididæ*. Homme (Mamm.), lézards (Rept.). Uitvlugt, Guyane hollandaise. *Ann. de paras.*, XV, 1937, p. 326.

Ixodes colloclaliae Schulze. *Ixodidæ*. Paroi abdominale. *Collocalia spodiopygia reichebovi* Stresem. (Ois.). Nouvelle Poméranie (New Britain) Australie. *Ornithologische Monatsberichte*, XLV, 1937, p. 77.

Physalozercon paguoxenus André. *Antennophoridæ*. Extrémité de l'abdomen. *Cænobita* sp. (Pagures) (Crust.). Baie de Melsisi, île Pentecôte, Nouvelles-Hébrides. *C. R. Soc. biol.*, CXXIV, 1937, p. 449.

Laelaps paguophilus André. *Laelaptidæ*. Extrémité de l'abdomen. *Cænobita* sp. (Pagures) (Crust.). Baie de Melsisi, île Pentecôte, Nouvelles-Hébrides. *C. R. Soc. biol.*, CXXIV, 1937, p. 449.

Hydrogamasus conchylicola André. *Gamasidæ-Parasitidæ*. Extrémité de l'abdomen. *Cænobita* sp. (Pagures) (Crust.). Baie de Melsisi, île Pentecôte, Nouvelles-Hébrides. *C. R. Soc. biol.*, CXXIV, 1937, p. 449.

Ixodes areololaris Olenov. *Ixodidæ*. Sud de la Carélie (nord de la Russie). *Med. paras.*, Moscou, V, 1936, p. 957.

Boophilus (Palpoboophilus) minningi K. Kishida. *Ixodidae*. Bétail. Corée. *Lansania*, VIII, 1936, n° 79, p. 131-144.

M. L.

Aphaniptères

Myodopsylla collinsi Glen M. Kohls. *Pulicidae*. Chauves-souris. Tunnel d'une mine abandonnée, Madera Canyon, Santa Rita mountains, Santa Cruz County, Arizona, U. S. A. *Journ. of paras.*, XXIII, 1937, p. 300.

Rhopalopsyllus truncatus Guimaraes. *Pulicidae*. *Felis catus* (gato do matto) (Mamm.). Santo Amaro, Etat de St.-Paul, Brésil. *Arch. de hyg. e saude publica*. São Paulo, II, 1936, p. 141.

Thrassis pandorae Jellison. *Pulicidae*. *Citellus elegans* (Mamm.). Beaverhead county, Mont., U. S. A. *Public Health Rep.*, LII, 1937, n° 23, p. 726.

Stivalius molestus K. Jordan. *Pulicidae*. Rat. Australie. *Proc. Linn. Soc. N. S. Wales*, LXI, 1936, p. 184.

Rhopalopsyllus pygaerus Wagner. *Pulicidae*. *Didelphys aurita* (Mamm.). Brésil, Etat de Santa Catharina. *Ztschr. f. Parasitenkunde*, IX, 1937, p. 418.

Rhopalopsyllus pradoi Wagner. *Pulicidae*. *Nasua socialis*, *Didelphys cancrivora* (Mamm.). Brésil, Etat de Santa Catharina. *Ztschr. f. Parasitenkunde*, IX, 1937, p. 420.

M. L.

Mallophages

Strongylocotes limai L. R. Guimaraes. *Philopteridae*. *Crypturellus undulatus vermicularis* (Temm.), *C. u. undulatus* (Temm.) et *Aramides saracura* (Spix) (Ois.) Matto Grosso (Brésil). *Folia clinica e biologica*, VIII, 1936, p. 48.

Pseudomenopon poliocephalus M. A. H. Quadri. *Menoponidae*. *Porphyrio poliocephalus* Latham (Ois.). *Inde. Zeitschr. f. Parasitenkunde*, VIII, 1936, p. 638.

Pseudocolpocephalum M. A. H. Quadri. *Colpocephalidae*. Espèce type : *P. uchidi* M. A. H. Quadri. *Zeitschr. f. Parasitenkunde*, VIII, 1936, p. 640.

Pseudocolpocephalum uchidi M. A. H. Quadri. *Colpocephalidae*. *Dissura episcopus* (Ois.). *Inde. Zeitschr. f. Parasitenkunde*, VIII, 1936, p. 641.

Degeeriella episcopi M. A. H. Quadri. *Philopteridae*. *Dissura episcopus* (Ois.). *Inde. Zeitschr. f. Parasitenkunde*, VIII, 1936, p. 643.

Gyropus ewingi F. L. Werneck. *Gyropidae*. *Ctenomys opimus* (Mamm.). Bolivie. *Mem. Instit. O. Cruz*, XXXI, 1936, p. 436.

Trichodectes wolffhügeli F. L. Werneck. *Trichodectidae*. *Conepatus chinga* (Mamm.). Cayute (Chili). *Mem. Instit. O. Cruz*, XXXI, 1936, p. 513.

Trichodectes albimarginatus F. L. Werneck. *Trichodectidae*. *Mazama americana* (Mamm.). Rio Aripuanã (Brésil). *Mem. Instit. O. Cruz*, XXXI, 1936, p. 570.

Gyropus lenti F. L. Werneck. *Gyropidae*. *Cercomys laurentius* (Mamm.). Estado do Ceará (Bresil). *Mem. Instit. O. Cruz*, XXXI, 1936, p. 845.

Dahlehornia S. Kéler. *Philopteridae*. Espèce type : *D. asymmetrica* (Nitzsch 1827) (= *Nirmus asymmetricus* Nitzsch). *Bull. internat. Acad. Polonaise*

des Sc. et des Lettres. Classe des Sc. Math. et Natur. Sér. B : Sc. natur. (II), 1936, p. 163.

Vernonia L. R. Guimarães. *Philopteridæ*. Espèce type : *V. macgregori* (Kellog) (= *Lipeurus macgregori* Kellog 1899). *Revista do Museu Paulista*, XX, 1936, p. 221.

Goniocotacanthus L. R. Guimarães. *Philopteridæ*. Espèce type : *G. matto-grossensis*. L. R. Guimarães. *Revista do Museu Paulista*, XX, 1936, p. 225.

Goniocotacanthus matto-grossensis R. Guimarães, *Philopteridæ*. *Columbigallina minuta minuta* (L.) (Ois.). Matto Grosso (Brésil). *Revista do Museu Paulista*, XX, 1936, p. 226.

R. Ph. DOLLFUS.

Gliricola calcaratus Werneck. *Giropidæ*. *Proechimys oris* Yhos. (Mamm.). Rio Acara, Para, Brésil. *Mem. Inst. O. Cruz*, XXXII, 1937, p. 13.

Trichodectes entrae Werneck. *Trichodectidæ*. *Lutra paranensis* (Mamm.). Belem, Para, Brésil. *Mem. Inst. O. Cruz*, XXXII, 1937, p. 23.

Cummingsia intermedia Werneck. *Trimenoponidæ*. *Marmosa incana paulensis* Tate (Mamm.). Itatiaya, Rio de Janeiro, Brésil. *Mem. Inst. O. Cruz*, XXXII, 1937, p. 70.

Monothoracius almeidai Werneck. *Gyropydæ*. *Dasyprocta acouchy* (Mamm.). Cachoeira do Mel, Rio Cumina, Para, Brésil. *Mem. Inst. O. Cruz*, XXXII, 1937, p. 105

M. LANGERON.

Anoploure

Scipio longiceps Ewing. *Thryonomys gregor pusillus* (Mamm.). Majiyachumvi, Afrique orientale anglaise. *Proc. Helminthol. Soc. Washington*, IV, 1937, p. 81.

Enderleinellus replicatus V. Redikorzer. *Hæmatopinidæ*. *Sciuropterus volans* L. (Mamm.). Agraz, Rep. tartare. *Parasitology*, XXIX, 1937. p. 4.

M. L.

Hémiptères

Microtomus pintoï A. da Costa Lima. *Reduviidæ*. Rincão, São Paulo, Brésil. *Annaes Acad. brasil. sc.*, VII, 1935, p. 315.

Microtomus sticheli A. da Costa Lima. *Reduviidæ*. Lassance, Minas Geraes, Brésil. *Annaes Acad. brasil. sc.*, VII, 1935, p. 316.

M. L.

Diptères

Sarcophaga rohdendorfi H. H. Salem. *Tachinidæ*. Egypte. *Bull. Soc. R. ent. Egypte*, XX, 1936, p. 229-247.

Anopheles (Nyssorhynchus) pessôai Ayroza Galvão et Lane. *Culicidæ*. Brésil, Etat de St.-Paul, rive gauche du Rio Pinheiros. *Rev. de biol. e. hyg.*, S. Paulo, VII, 1936, p. 66.

Goeldia (Isogoeldia) luederwaldti J. Lane. *Culicidæ*. Brésil, Etat de St-Paul, Avaré, Fazenda José Euphrasio. *Inst. de hyg. São Paulo, Bol. n° 60*, 1936, p. 6 du tiré à part.

Simulium obscurum E. G. Gibbins. *Simulidæ*. Uganda, Sadei, Mt. Elgon. *Bull. entom. res.*, XXVIII, 1937, p. 291.

Simulium touffeum E. G. Gibbins. *Simulidæ*. Uganda, Sadei, Mt. Elgon. *Bull. entom. res.*, XXVIII, 1937, p. 292.

Simulium octospica E. G. Gibbins. *Simulidæ*. Uganda, Bumboi, Bugishu. *Bull. entom. res.*, XXVIII, 1937, p. 295.

Wyeomyia (Phoniomyia) antunesi Lane et Guimarães. *Culicidæ*. Campos do Jordao, Etat de St-Paul, Brésil. *Annaes Paulistas de med. e cir.*, XXXIII, 1937, p. 213.

Paraeuctenodes Pessôa et Guimarães. *Streblidæ*. Espèce type : *P. longipes* Pessôa et Guimarães. *Annaes Fac. med. Univ. S. Paulo*, XII, 1936, p. 257.

Paraeuctenodes longipes Pessôa et Guimarães. *Streblidæ*. *Lonchoglossa ecaudata* Wied., *Phyllostomus hastatus* (Mamm.). Ville de São Paulo, Brésil. *Annaes Fac. med. Univ. S. Paulo*, XII, 1936, p. 258.

Aspidoptera clovisi Pessôa et Guimarães. *Streblidæ*. *Ancera geoffroyi* Gray (Mamm.). Ipiranga, São Paulo, Brésil. *Annaes Fac. med. Univ. S. Paulo*, XII, 1936, p. 262.

Simulium arnoldi Gibbins. *Simulidæ*. Rhodesia, chutes Victoria. *Ann. of trop. med. paras.*, XXXI, 1937, p. 299.

Laphriomyia longipalpis Lutz et Castro. *Tabanidæ*. Angra dos Reis, Etat de Rio de Janeiro, Brésil. *Mem. Inst. O. Cruz*, XXXII, 1937, p. 231.

Phlebotomus limai F. da Fonseca. *Psychodidæ*. Brésil, São Paulo, Parque do Estado, na Serra da Cantareira. *Mem. Inst. Butantan*, X, 1935-1936, p. 61.

Anopheles (Arribalzagia) evandroi A. Da Costa Lima. *Culicidæ*. Baixada Fluminense, S. Bento, Etat de Rio de Janeiro, Brésil. *Rev. med.-cir. do Brasil*, (2) XLV, 1937, p. 5.

Culicoides pelilionensis Tokunaga. *Chironomidæ*. Ile Pelilion (Iles Palou, Océanie). *Mushi*, IX, 1936, p. 55.

Phlebotomus keshishiani Shrhurenkova. *Psychodidæ*. Pouwi, sud-est du Tadzhikistan (6.000-7.000 pieds). *Med. paras.*, Moscou, V, 1936, p. 892.

Lyperosia (Haphospatha) scopolax Pens. *Stomoxys*. Hongrie. *Ztschr. angew. Entom.*, XXIV, 1937, p. 150.

Lyperosia (Haphospatha) bovina Pens. *Stomoxys*. Lettonie. *Ztschr. angew. Entom.*, XXIV, 1937, p. 150.

Anopheles (Myzomyia) harperi Evans. *Culicidæ*. Kenya. *Ann. trop. med. paras.*, XXX, 1936, p. 533.

Anopheles (Myzomyia) macmahoni Evans. *Culicidæ*. Kenya. *Ann. trop. med. paras.*, XXX, 1936, p. 538.

Simulium pseudomedusaeformia B. de Meillon. *Simulidæ*. Zululand. *Publ. S. Afr. Inst. med. Res.*, n° 38, 1936, p. 208.

Simulium tisiophone B. de Meillon. *Simulidæ*. Zululand. *Publ. S. Afr. Inst. med. Res.*, n° 38, 1936, p. 208.

Simulium impukane B. de Meillon. *Simulidæ*. Zululand. *Publ. S. Afr. Inst. med. Res.*, n° 38, 1936, p. 208.

Culicoides luteopanus Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. San Jacinto, D. F., Mexique. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 156.

Culicoides piliferus Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. Roland Park, Baltimore, Md., U. S. A. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 163.

Culicoides albomacula Metcalf Root et Hoffmann. *Chironomidæ*. San Jacinto, D. F., Mexique. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 164.

Culicoides nanus Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. Trous d'arbres, Gwynn's Falls Park, Baltimore, Md., U. S. A. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 165.

Culicoides villosipennis Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. Trous d'arbres, Sparrows Point, Baltimore, Md., U. S. A. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 165.

Culicoides arboricola Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. Trous d'arbres, Gwynn's Falls Park, Baltimore, Md., U. S. A. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 166.

Culicoides simulans Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. Roland Park, Baltimore, Md., U. S. A. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 168.

Culicoides niger Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. Bay Shore, Baltimore, Md., U. S. A. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 168.

Culicoides dampfi Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. San Jacinto, D. F., Mexique. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 169.

Culicoides scopus Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. San Jacinto, D. F., Mexique. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 170.

Culicoides copiosus Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. San Jacinto, D. F., Mexique. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 171.

Culicoides spinosus Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. Roland Park, Baltimore, Md., U. S. A. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 172.

Culicoides gigas Metcalf Root et Hoffman. *Chironomidæ*. Fort à la Corne, Canada. *Amer. Jl. of hyg.*, XXV, 1937, p. 172.

Uranotaenia cooki F. M. Root. *Culicidæ*. Port-au-Prince, Haiti. *Jl. of paras.*, XXIII, 1937, p. 98.

Stomoxys xanthomelas Roubaud. *Stomoxydæ*. Luputa (Lomani) Congo belge. *Bull. Soc. pathol. exot.*, XXX, 1937, p. 140.

Anopheles (Lophopodomysia n. subgen) *squamifemur* P. C. A. Antunes. *Culicidæ*. Restrepo, Colombie. *Bull. entomol. res.*, XXVIII, 1937, p. 69.

Goeldia lanei P. C. A. Antunes. *Culicidæ*. Restrepo, Colombie. *Bull. entomol. res.*, XXVIII, 1937, p. 71.

Phlebotomus arthuri F. da Fonseca. *Psychodidæ*. Environs de São Paulo, Brésil. *Rev. ent.*, VI, 1936, p. 323.

Phlebotomus alphabeticus F. da Fonseca. *Psychodidæ*. Environs de São Paulo, Brésil. *Rev. ent.*, VI, 1936, p. 323.

Tabanus (Sziladynus) altaicus N. Olsufjew. *Tabanidæ*. Altaï. *Magasin de paras.*, *Inst. zool.*, Acad. sc. U. R. S. S., VI, 1936, p. 223 et 241.

Tabanus (Sziladynus) tarandinoides N. Olsufjew. *Tabanidæ*. Altaï, Sibérie orientale, Ussuri, Mongolie du Nord, Mandchourie. *Magasin de paras.*, *Inst. zool.*, Acad. sc. U. R. S. S., VI, 1936, p. 224 et 242.

Tabanus (Sziladynus) pavlovskii N. Olsufjew. *Tabanidæ*. Altaï, Sibérie orientale, Amour, Mongolie du Nord. *Magasin de paras.*, *Inst. zool.*, *Acad. sc. U. R. S. S.*, VI, 1936, p. 227 et 242.

Tabanus (Sziladynus) angustipalpis N. Olsufjew. *Tabanidæ*. Altaï, Sibérie orientale, Amour, Ile Sachaline, Mongolie du Nord. *Magasin de paras.*, *Inst. zool.*, *Acad. sc. U. R. S. S.*, VI, 1936, p. 228 et 243.

Tabanus (Sziladynus) nigrivitta N. Olsufjew. *Tabanidæ*. Ukraine, nord du Caucase, nord du Kazakhstan, steppes de la Sibérie, Ussuri, Mongolie du Nord. *Magasin de paras.*, *Inst. zool.*, *Acad. sc. U. R. S. S.*, VI, 1936, p. 231 et 244.

Tabanus (Ochrops) pallitarsis N. Olsufjew. *Tabanidæ*. Steppes de la Sibérie occidentale, Ussuri, Mongolie du Nord. *Magasin de paras.*, *Inst. zool.*, *Acad. sc. U. R. S. S.*, VI, 1936, p. 236 et 245.

Anopheles (Anopheles) chiriquiensis Komp. *Culicidæ*. Panama, région du volcan Chiriqui à 6.500 pieds. *Proc. entom. Soc. Washington*, XXXVIII, 1936, p. 156.

Anopheles (Nyssorhynchus) anomalophyllus Komp. *Culicidæ*. Panama et Costa Rica. *Proc. entom. Soc. Washington*, XXXVIII, 1936, p. 160.

Orthopodomyia (Orthopodomyia) sampaio A. Da Costa Lima. *Culicidæ*. Larves dans un trou d'arbre. Serra do Cubatao, Etat de St-Paul, Brésil. *Rev. med. cir. do Brasil*, XLIII, 1935, p. 176.

Orthopodomyia (Orthopodomyia) townsendi A. Da Costa Lima. *Culicidæ*. Sans localité. *Rev. med. cir do Brasil*, XLIII, 1935, p. 178.

Phlebotomus rickardi Costa Lima. *Psychodidæ*. Sitio da Lagôa Secca, Crato, Estado do Ceara, Brésil. *Rev. med. cir. do Brasil*, XLIV, 1936, p. 288.

Anopheles hectoris Giaquinto Mira. *Culicidæ*. Guatemala. *Bol. Direcc. Salubr. Guatemala*, I, 1931, p. 606.

Leptoconops dixi Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Rooibank, S. W. Africa. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 141.

Culicoides zuluensis Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Gingindhlovu, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 145.

Culicoides alexis Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Ofcolaco, Transvaal. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 147.

Culicoides ravus Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Ofcolaco, Transvaal. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 151.

Culicoides meeserellus Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Tzaneen, N. Transvaal. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 151.

Culicoides hysipyles Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Vereeniging, Transvaal. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 156.

Lasiohelea natalia Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 158.

Forcipomyia (Lepidohelea) statiræ Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 165.

Forcipomyia (Lepidohelea) hesiones Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII,

Forcipomyia iphias Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 169.

Alluaudomyia maculosa Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Middledrift, district d'Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 172.

Alluaudomyia senta Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 175.

Atrichopogon helion Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 177.

Bezzia (Probezzia) vacunæ Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Umlalazi stream, près d'Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 180.

Bezzia (Probezzia) sibayae Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Mseleni, N. Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 183.

Palpomyia cinnæ Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Umlalazi stream, près d'Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 185.

Jenkinshelea polyxenæ Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 189.

Dasyhelea joycei Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. N'Kwaleni Valley, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 193.

Dasyhelea larundæ Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Eshowe, Zululand. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 195.

Dasyhelea tugelæ Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Tugela River Bridge, Natal. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 197.

Dasyhelea thompsoni Botha de Meillon. *Ceratopogonidæ*. Rock pools, Groothelai, Messina, Transvaal. *South Africa Inst. for med. res.*, VII, 1936, n° XXXVIII, p. 202.

Limatus flavisetosus de Oliveira Castro. *Culicidæ*. Brésil. *Rev. Dep. nac. Prod. anim. Brasil*, II, 1935, p. 143.

Orthopodomyia alba Baker. *Culicidæ*. Etats-Unis, Washington. *Proc. ent. Soc. Washington*, XXXVII, 1936, p. 153.

Phlebotomus (Brumptomyia) diabolicus Hall. *Psychodidæ*. Texas (U. S. A.). *Proc. ent. Soc. Washington*, XXXVIII, 1936, p. 27.

Phlebotomus viduus Parrot. *Psychodidæ*. Diré Daoua (Ethiopie). *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, XIV, 1936, p. 34.

Phlebotomus martini Parrot. *Psychodidæ*. Diré Daoua (Ethiopie). *Arch. Inst. Pasteur Algérie*, XIV, 1936, p. 35.

Culex (Microculex) worontzowi Pessôa et A. Ayroza Galvão. *Culicidæ*. Bromeliacées de Tabatinguera (S. Paulo, Brésil). *Rev. de biol. e hyg. S. Paulo*, VI, 1935, p. 86.

M. L.

Chrysochiton Lutz et Castro. *Tabanidæ*. Espèce type : *C. auricincta* (Lutz et Neiva 1909). *Mem. Inst. Osw. Cruz.*, XXXI, 1936, p. 172.

Chrysochiton bocainensis Lutz et Castro. *Tabanidæ*. Brésil. *Mem. Inst. Osw. Cruz.*, XXXI, 1936, p. 172.

Bombyloopsis juxtaeonina Lutz et Castro. *Tabanidæ*. Brésil. *Mem. Inst' Osw. Cruz.*, XXXI, 1936, p. 175.

Anopheles (A) habibi Puri et Mulligan. *Culicidæ*. Indes. *Rec. Malaria survey of India*, VI, 1936, p. 67.

Tabanus tenuistria Kröber. *Tabanidæ*. Grèce. *Acta Inst. et Musei Zool. Univ. Atheniensis*, I, 1936, p. 33.

Tabanus shannonella Kröber. *Tabanidæ*. Grèce. *Acta Inst. et Musei Zool. Univ. Atheniensis*, I, 1936, p. 36.

Tabanus velutinus Kröber. *Tabanidæ*. Grèce. *Acta Inst. et Musei Zool. Univ. Atheniensis*, I, 1936, p. 38.

Atylotus hadjinicolaoui Kröber. *Tabanidæ*. Grèce. *Acta Inst. et Musei Zool. Univ. Atheniensis*, I, 1936, p. 39.

Chrysozona gandazisi Kröber. *Tabanidæ*. Macédoine. *Acta Inst. et Musei Zool. Univ. Atheniensis*, I, 1936, p. 43.

J. SAUTET.

Hyménoptères

Callimome bifasciipennis A. B. Gahan. *Callimomidæ*. Cavité du corps. *Phytophaga* sp. d'*Opuntia*. Mexico City (Mexique). *Proceed. Un. St. Nat. Mus.*, LXXXIII, n° 2995, 1936, p. 481.

Rileyia opuntiae A. B. Gahan. *Eurytomidæ*. Cavité du corps. *Asphondylia opuntiae* Felt. Uvalde (Texas). *Proceed. Un. St. Nat. Mus.*, LXXXIII, n° 2995, 1936, p. 482.

Neocatolaccus moneilemae A. B. Gahan. *Pteromalidæ*. Cocons. *Moneilema ulkei* Horn. Uvalde (Texas). *Proceed. Un. St. Nat. Mus.*, LXXXIII, n° 2995, 1936, p. 484.

Tetrastichus gerstaeckeriae A. B. Gahan. *Eulophidæ*. Cavité du corps. *Gerstaeckeria porosa* Le Conte. Texas. *Proceed. Un. St. Nat. Mus.*, LXXXIII, n° 2995, 1936, p. 485.

R.-Ph. DOLLFUS.

Iridophaga korsakowi Picard. *Chalcididæ*. *Blepharopsis mendica*. Algérie. *Bull. Soc. ent. France*, XLI, 1936, p. 75.

Dirhinus wohlfahrtiae Ferrière. *Chalcididæ*. Egypte. *Bull. Soc. R. ent. Egypte*, XIX, 1935, p. 365.

J. SAUTET.